

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1953

942

T H E S E
P O U R L E
D O C T O R A T E N M E D E C I N E
(Diplome d'Etat)
p a r

RICHIR, Claude, Raoul.
Né le 6 Août 1926 à Roubaix (Nord)

Présentée et soutenue publiquement le

1953.

C O N T R I B U T I O N A

L ' E T U D E de la C Y T O L O G I E G A S T R I Q U E

Son application au diagnostic du cancer de l'estomac.

-O-O-O-

Président : Professeur DELARUE.

1953

1932

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Nom du Candidat : R I C H I R
Prénoms : Claude, Raoul

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre :

1

RICHIR, Claude, Raoul
Contribution à l'étude
de la Cytologie Gastrique
Son application au Diagnos-
tic du Cancer de l'estomac.
PARIS- Dact. in 4^e
83 p. (Th. Méd. (Et.)
Paris 1953
N^o
Ed. A.G.E.M.P. 1953

2

RICHIR, Claude Raoul
Contribution à l'étude
de la Cytologie Gastrique
Son application au diagnos-
tic du Cancer de l'estomac.
PARIS - Dact. in 4^e
83 p. (Th. Méd. (Et.)
Paris 1953.
N^o
Ed. A.G.E.M.E. 1953

3

RICHIR, Claude, Raoul
Contribution à l'étude
de la Cytologie Gastrique
Son application au diagnos-
tic du Cancer de l'estomac.
PARIS - Dact. in 4^e
83 p. (Th. Méd. (Et.)
Paris 1953.
N^o
Ed. A.G.E.M.P. 1953

4

RICHIR, Claude, Raoul
Contribution à l'étude
de la Cytologie Gastrique.
Son application au Diagnos-
tic du cancer de l'estomac.
PARIS - Dact. in 4^e
83 p. (Th. Méd. (Et.)
Paris 1953.
N^o
Ed. A.G.E.M.P. 1953

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Année 1953

Nº

T H E S E
P O U R L E
D O C T O R A T E N M E D E C I N E
(Diplôme d'Etat)
p a r

RICHIR, Claude, Raoul.
Né le 6 Août 1926 à Roubaix (Nord)

Présentée et soutenue publiquement le

1953.

C O N T R I B U T I O N A

L ' E T U D E de la C Y T O L O G I E G A S T R I Q U E

Son application au diagnostic du cancer de l'estomac.

-o-o-o-

Président : Professeur DELARUE.



DOYEN HONORAIRE :

M. Baudoin

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. Baudoin, Brindeau, Carnot, Chevassu, Chiray, Clerc, Delbet, Gougerot (H), Guillain, Harvier, Laubry, Lemaître, Lemierre, Lhermitte, Lian, Loeper, Marion, Mathieu, Mocquot, Mulon, Olivier, Ombredanne, Sannié, Sézary, Tanon.

DOYEN Léon BINET, Membre de l'Institut

ASSESEUR Jean VERNE

I.- PROFESSEURS

	MM.
Anatomie	CORDIER (G.)
Anatomie pathologique	DELARUE (A.)
Bactériologie	GASTINEL (P.)
Biologie appliquée à l'éducation physique et aux sports.....	CHAILLEY-BERT (P.)
Biologie médicale	VERNE (J.)
Cancérologie médicale et sociale	HUGUENIN (R.)
Carcinologie	OBERLING (C.)
Chimie médicale	COLONOVSKI (M.)
(Hôtel-Dieu	BROCQ (P.)
Cliniques chirurgicales ... (Broussais	D'ALLAINES
(Salpêtrière.....	MONDOR (H.)
(Cochin	QUENU (J.)
Clinique chirurgicale réparatrice et orthopédique	MERLE D'AUBIGNE (R.)
Clinique de cardiologie	DONZELOT (E.)
Clinique de chirurgie infantile et d'orthopédie	FEVRE (M.)
Clinique de chirurgie pleuro-pulmonaire	MONOD (R.)
Clinique de la tuberculose	BERNARD (E.)
Clinique de neuro-chirurgie	PETIT-DUTAILLIS (D.)
Clinique de puériculture	LELONG (M.)
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	DEGCS (R.)
Clinique des maladies du sang	CHEVALLIER (P.)
Clinique des maladies du système nerveux ...	ALAJOUANINE (T.)
Clinique des maladies des enfants	DEBRE (R.)
Clinique des maladies infectieuses	MOLLARET (P.)
Clinique des maladies mentales et de l'encéphale	DELAY (J.)
Clinique gynécologique	FUNCK-BRENTANO (P.)
(Hôtel-Dieu.....	BENARD (H.)
(Bichat	LAROCHE (G.)
Cliniques médicales (Cochin	MOREAU (R.)
(Broussais	DE GENNES

Clinique médicale d'hydro-climatologie	
thérapeutique	JUSTIN-BESANCON (L.)
Clinique médicale propédeutique	PASTEUR-VALLERY-RADOT (L.)
(Tarnier	LANTUEJOUL (P.)
Cliniques obstétricales(Baudelocque	LEVY-SOLAL (E.)
(Port-Royal	LACOMME (M.)
Clinique ophtalmologique	VELTER (E.)
Clinique oto-rhino-laryngologique	AUBIN (A.)
Clinique physio-pathologique des problèmes alimentaires(chaire à titre personnel).	RICHET (C.)
Clinique psychiatrique infantile	HEUYER (C.)
Clinique rhumatologique	COSTE (F.)
Clinique stomatologique	DECHAUME (M.)
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE (J.)
Clinique thérapeutique médicale	LEMAIRE
Clinique urologique	FEY (B.)
Embryologie	GIROUD (A.)
Génétique	LAMY (M.)
Histoire de la médecine et de la chirurgie..	MOUQUIN (M.)
Histologie	CHAMPY (C.)
Hygiène et clinique de la première enfance..	CATHALA (J.)
Hygiène et médecine préventive	JOANNON (C.)
Médecine du travail	DESOILLE (H.)
Médecine légale	PIEDELIEVRE (R.)
Parasitologie et histoire naturelle médicale.....	GAILLIARD (H.)
Pathologie chirurgicale	N
Pathologie exotique	LAVIER (G.)
Pathologie expérimentale et comparée	LENEGRE (J.)
Pathologie et thérapeutiques générales	N
Pharmacologie et matière médicale	HAZARD (R.)
Physico-chimie médicale (chaire à titre personnel).....	DOGNON (A.)
Physiologie	BINET (L.)
Physique médicale	STROHL (A.)
Radiologie médicale	DESGREZ (H.)
Technique chirurgicale	MOULONGUET (P.)
Thérapeutique	TURPIN (R.)
Chaire de clinique médico-sociale du diabète sucré et des maladies de la nutrition....	BOULIN

II.- PROFESSEURS SANS CHAIRE

MAITRE DE CONFERENCES-AGREGES ET AGREGES

Anatomie	(DEBEYRE (J.) (DELMAS (A.)
Anatomie pathologique	(GAUTHIER-VILLARS (Melle P.)Pr.s.ch. (BUSSER (F.) (GOUYGOU

Bactériologie	(FASQUELLE (R.)
	(NEVOT (A.)
Biologie médicale	BOURLIERE (F.)
	(ETTORI (J) Pr.s.ch.
Chimie médicale	(JAYLE (M.F) Pr.s.ch.
	(SCHAPIRA (G.)
Dermato-syphiligraphie	DUPERRAT
Histologie	(BULLIARD (F.) Pr.s.ch
	(COUJARD (R.)
Hydrologie	DEBRAY (C.)
Hygiène	(BOYER
	(DEPARIS (M.)
Médecine légale	) DEROBERT (L.)
	) HADENGUE
	) GAULTIER (M.)
Neuro-chirurgie	DAVID
Neurologie	SEZE (S.de)
	(GRASSET (J.)
	(LEPAGE (F.)
Obstétrique	(MAYER (M.)
	(MERGER (R.)
	(RAVINA (J.)
	(VARANGOT (J.)
	(MORIN
Ophtalmologie	(OFFRET (G.)
	(DESVIGNES (P.)
Orthopédie	JUDET
Oto-rhino-laryngologie	(HALPHEN (E) Pr.s.ch.
	(AUBRY
	(MADURO (R.)
Parasitologie	BRUMPT (L.)
Parasitologie coloniale	CHABAUD
	(ABOULKER (P.)
	(BAUMANN (J.)
	(GOSSET (J.)
Pathologie chirurgicale	(HUGUIER (J.)
	(LAURENCE (G.)
	(LEGER (L.)
	(OLIVIER (Cl.)
	(PADOVANI (P.)
	(LORTAT-JACOB
	(POILLEUX (M.)
Pathologie chirurgicale	(ROUX (M.)
	(RUDLER (J.C)
	(VERNE (J.M.)
Pathologie expérimentale	MERKLEN (P.)

MM.

	(BERNARD (J.)
	(BOUDIN (G.)
	(CASTAIGNE (P.)
	(CONTE (M.)
	(DECOURT (J.)
	(DOMART (A.)
	(DREYFUS (Gilbert)
	(FAUVERT (R.)
biologie médicale	(HAMBURGER (J.)
	(KOURILSKY (R.)
	(MILLIEZ (P.)
	(PERRAULT (M.)
	(RAMBERT (P.)
	(THIEFFRY (St.)
	(TURIAF (J.)
	(LAROCHE
	(PEQUIGNOT
	(LAMOTTE
iatric	((LAPLANE (R.)
	(MARIE (J.)
rmacologie	(LEVY (Melle J)Pr.s.ch.
	(CHEYMOL (J.H.) Pr.s.ch.
siologie	(BARGETON (D) Pr.s.ch.
	(PARROT (J.L.)
sique médicale	(DJOURNO (A.)
	(GOUGEROT (L.)
isiologie	KREIS
chiatrie	BARUK (H.)
chiatrie infantile	MICHAUX (L.)
matologie	(CHAPUT (Mme A)
	(CERNEA
riculture	JOSEPH
rapeutique	PERRAULT
	chargé de l'enseignement
logie	KUSS (R.)

III.- PROFESSEURS HONORAIRES ET AGREGES

RAPPELES A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM. BRINDEAU (A.) (Obstétrique), GATELLIER (J.) (Clinique chirurgicale), LE LORRIER (V.) (Obstétrique), VAUDESCAL (R.) (Obstétrique).

IV.- PROFESSEURS SANS CHAIRE ET AGREGES

CHARGES DE COURS DE CLINIQUE ANNEXE

à titre permanent

MM.

Clinique chirurgicale	(AMELINE (A.) (MENEGAUX (G.) (PATEL (J.) (SICARD (A.)
Clinique médicale	(BROUET (G.) (CACHERA (R.) (GARCIN (J.) (HAGUENAU (M.) (MARCHAL (G.) (SOULIE (E.)
Clinique obstétricale	(DIGONNET (L.) (EGALIE (G.)
Clinique ophtalmologique	RENART (G.)
Clinique urologique	COUVELAIRE (R.)

MM.

Secrétaire de la Faculté	MOREL (J.)
Secrétaire adjoint	Melle CHANTREUIL (G.)

Conservateur Docteur HAHN (A.)
Bibliothécaires M. DOUAN (G.), Melles DUMAITRE (P.)
GOICHON (A.M.), LE NOIR (G.), METIN (F.)

Par délibération en date du 9 dec. 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MA MERE,

A MON PERE, le Docteur Raoul RICHIEU,

A MA FEMME, en témoignage de mon profond amour.

A MADAME ET MONSIEUR Alfred DUPREY

A MADAME ET MONSIEUR Hector ISORE

A MADAME ET MONSIEUR René BARTHES

A Monsieur le Professeur DELARUE

qui a permis notre initiation à l'Anatomie
Pathologique et qui a bien voulu accepter
la présidence de cette thèse.

Nous les prions d'accepter nos plus
vifs remerciements.

A notre Maître, le Docteur André LAMBLING, Médecin de l'Hopital BICHAT qui nous a ouvert son service.

Son enseignement nous a orienté vers la Gastro-entérologie et son constant appui a permis la réalisation de cette thèse;

Nous le prions respectueusement d'accepter notre plus profonde reconnaissance.

Au Professeur Michel CONTE, Professeur Agrégé, Médecin de l'Hopital TENON.

Il a inspiré ce travail et a bien voulu nous accorder ses conseils et ses critiques.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre gratitude.

Aux Docteurs Violette NUOVO, Jean-Jacques BERNIER, Serge BONFILS.

En reconnaissance de l'aide qu'ils nous ont libéralement accordée.

Nous remercions le Professeur BUGNIARD grâce à qui une partie des moyens matériels nécessaires à ce travail a été mise à notre disposition.

I N T R O D U C T I O N

Le Cancer de l'estomac représente chez l'homme le tiers de la totalité des cancers. Il évolue sans signes pendant des années et reste souvent, lorsqu'il est découvert, au dessus des ressources chirurgicales. C'est toujours un difficile problème que d'en affirmer le diagnostic à un stade où l'exérèse comporte encore des chances de succès.

Connue depuis 1882, la recherche des cellules cancéreuses dans les liquides gastriques s'est vue, dès le début du siècle, supplantée par la radiologie qui fournissait rapidement des images lésionnelles faciles à lire. Et les travaux d'une dizaine d'auteurs parus avant 1914 tombent dans l'oubli, la radioscopie puis la radiographie furent longtemps les seules techniques utilisées.

Vingt-cinq ans plus tard la nécessité d'un diagnostic précoce apparue comme évidente si l'on voulait améliorer la proportion des malades opérables. Seule, la multiplication des clichés, leur répétition, pouvaient permettre à des radiologistes spécialisés de déceler dans certains cas des cancers encore peu évolués. Mais la radiologie du cancer gastrique devient de ce fait une technique longue, difficile, onéreuse, et dans l'ensemble mal adaptée au dépistage systématique du cancer.

Certains auteurs reprirent alors les vieilles techniques cytologiques, ce qui n'était d'ailleurs dans leur esprit que l'extension à l'estomac d'une méthode qui, pour les cancers génitaux, avait donné de brillants résultats.

La richesse en éléments cellulaires des liquides pleuraux, d'ascite, des crachats, des sécrétions vaginales contraste avec la pauvreté en éléments cellulaires pariétaux des prélèvements gastriques ou duodénaux. L'exfoliation cellulaire est toujours beaucoup plus importante pour les épithéliums malpighiens ou les endothéliums que pour les épithéliums glandulaires. Pourtant, lorsque survient une transformation cancéreuse, l'exfoliation s'exagère et le nombre de cellules glandulaires normales et surtout pathologiques s'accroît considérablement sur les frottis.

Il est frappant de constater que la desquamation d'une petite zone cancéreuse de quelques centimètres de diamètre et parfois de quelques millimètres est plus abondante que celle du reste de l'organe, et qu'un cancer intra-épithélial desquame plus que la totalité de la muqueuse saine.

COMAN s'est attaché aux problèmes de la desquamation cellulaire, pensant y trouver une explication du pouvoir métastatique de certaines tumeurs. Ses travaux portent sur les épithéliums malpighiens et glandulaires :

a) Si on mesure au micromanipulateur de CHAMBERS la force qu'il faut exercer pour séparer deux cellules de l'épithélium malpighien des lèvres, on trouve des chiffres de 1,41 microgramme en moyenne.

Par contre, dans le même épithélium atteint d'un cancer, ces chiffres tombent à 0,47 microgramme. Pour le col utérin, les résultats sont encore plus nets : 1,1 microgramme à l'état normal; 0,18 microgramme dans les cancers suffisent à séparer deux cellules jointives.

b) Avec MAC CUTCHEON et MOORE, les recherches ont été étendues aux épithéliomas glandulaires. De petits fragments de tissus sains et cancéreux sont placés dans des liquides physiologiques et soumis à des chocs répétés dans un agitateur de BOERNER, pendant deux heures et demie.

L'intensité de l'exfoliation cellulaire est mesurée par des numérations de cellules isolées tombées dans le liquide, numérations répétées toutes les 50 minutes. La contre-épreuve est fournie par des examens comparatifs de microphotographies prise avant et après agitation du tissu. Comme la majorité des mesures de ces auteurs concerne des cancers digestifs, nous avons cru utile de les rapporter :

Dans le tableau I, à propos de chaque organe étudié, ont été notés :

a) La richesse du milieu en éléments cellulaires isolés après 150 minutes d'agitation.

b) L'intensité de la desquamation cellulaire jugée par comparaison de microphotographies prises avant et après agitation et notée en +, ++, +++ suivant l'importance de la desquamation cellulaire.

Ces chiffres paraissent remarquablement démonstratifs de l'exfoliation des cellules cancéreuses et expliquent leur abondance sur les frottis, même lorsqu'il s'agit d'un petit cancer. Ils paraissent suffisants à asseoir sur des bases expérimentales solides la notion si importante de CYTOLOGIE D'EXFOLIATION.

Cette thèse a été consacrée à l'étude des problèmes techniques que soulève l'application de la cytologie d'exfoliation au cancer de l'estomac ainsi qu'à l'exposé de la technique que nous avons utilisée depuis 18 mois dans le laboratoire du Docteur LAMBLING à l'Hopital BICHAT.

T A B L E A U I

ORGANE ET AFFECTION	Nombre de cellules en suspension après 150'		Intensité de la desquamation avant et après agitation
- Cancer estomac		550	 +++
- Estomac normal		150	 +
- Cancer estomac		260	 +++
- Estomac normal		200	 +
- Cancer estomac		100	 +++
- Estomac normal		50	 +
- Cancer estomac		60	 +
- Estomac normal		70	 ++
- Cancer sigmoïde		1330	 +++
- Sigmoïde normal		0	 +
- Cancer colloïde du colon		100	 ++++
- Colon normal		35	 +
- Cancer du rectum		40	 +++
- Rectum normal		10	 ++
- Cancer du rectum		9700	 +++
- Rectum normal		420	 +

Le plan que nous nous proposons de suivre dans ce travail est le suivant :

- 1^o) Rappel historique des travaux ayant précédés ceux de PAPANICOLAOU (parus en 1946).
 - 2^o) Exposé analytique et critique des différentes techniques qui ont été proposées.
 - 3^o) Recherches personnelles sur les facteurs conditionnant les altérations cellulaires.
 - 4^o) Description de la technique que nous avons utilisée.
 - 5^o) Le frottis gastrique normal et pathologique, son interprétation.
 - 6^o) Les problèmes soulevés par l'énoncé des résultats, les statistiques publiées, nos résultats personnels.
 - 7^o) Conclusion, la valeur de la cytologie gastrique.
-

H I S T O R I Q U E

POUCHET est, semble-t-il, le premier auteur qui se soit intéressé à l'étude de la cytologie d'exfoliation. Il publie à Paris, en 1847, une monographie intitulée : "Théorie positive de l'ovulation spontanée et de la fécondation des mammifères dans l'espèce humaine basée sur l'observation de toute la série animale". Ses études portent sur l'examen microscopique à l'état frais des prélèvements vaginaux, mais d'aussi pauvres moyens n'aboutissent à aucune conclusion sur le cycle sexuel de la Femme et ses travaux restent sans écho.

Du moins en France, car trente-cinq ans plus tard, en Allemagne, les problèmes de cytologie gastrique, ou plutôt d'histologie sont repris par ROSENBACH, en 1882 qui, grâce à l'examen de fragments de muqueuses gastriques rejetés avec les vomissements, aurait diagnostiqué plusieurs cancers.

Cinq ans plus tard, ORTH propose le lavage gastrique et l'examen de son sédiment, technique qui est reprise par CRAMER en 1891.

C'est néanmoins le procédé de ROSENBACH qu'applique BOAS dans plusieurs cas (qu'il ne publie d'ailleurs qu'en 1901). Il examine des fragments de muqueuse gastrique normale, enflammée ou cancéreuse et ses résultats confirment ceux de ROSENBACH et ceux d'EWALD parus en 1893.

CONHEIM qui semble être le premier à avoir appliqué le lavage gastrique en même temps que le repas d'EWALD publie en 1895 les résultats de l'examen de 40 malades dont 9 cancéreux et il précise que lorsque les lambeaux muqueux sont supérieurs à 8 mm² il est possible de faire un examen histologique, ce qui est impossible avec des fragments plus petits.

REINEBOTH, l'année suivante, trouve des fragments de tumeur maligne dans des caillots provenant de l'estomac de 5 cancéreux gastriques. Il signale que lorsque les cellules sont isolées l'erreur est presque certaine en raison des trop grandes ressemblances entre les cellules cancéreuses et les cellules normales. C'est aussi l'opinion de RIEGEL en 1897 basée sur l'examen de fragments macroscopique provenant de plusieurs cancers gastriques.

HEMMETER en 1899, pour augmenter la desquamation du matériel cellulaire propose et applique un grattage de la muqueuse dans une série de 48 cancers, avec d'assez bons résultats. Cette technique est critiquée par MARINI en raison "du grand danger d'hémorragies" et du fait que "seul le hasard permet d'atteindre les zones cancéreuses".

En réalité, dans toutes ces techniques il ne s'agit jamais que d'examiner des fragments de muqueuse gastrique et non pas des cellules plus ou moins isolées. Résumant à ce propos l'opinion d'EWALD, de RIEGEL, de BOAS, de LENHARTZ, MARINI écrit : "Tous ces auteurs ont considéré comme difficile, sinon impossible de différencier dans un simple examen à l'état frais les cellules cancéreuses des autres cellules.... et ont dénié toute valeur diagnostique aux examens cytologiques".

Les travaux de MARINI, puis ceux de LOEPER et BINET et de SIMON et CAUSSADE allaient asseoir sur des bases plus solides la cytologie gastrique.

Le travail de MARINI, paru en 1909, rapporte des recherches entreprises depuis 1907. Cette publication a été complétée par 2 autres parues en 1910.

La technique utilisée a été la suivante : avec une sonde de FAUCHER, on vide l'estomac qui est ensuite lavé avec de l'eau pure ou alcaline. Ce liquide est centrifugé et le culot étalé sur lames est examiné sans coloration ni fixation; quelques essais de colorations vitales n'ayant donné à l'auteur que des déboires. Celui-ci signale la difficulté particulière de l'examen des cellules gastriques souvent altérées par les ferments digestifs. La morphologie des cellules gastriques normales, des cellules à mucus déformées par une grosse vacuole est parfaitement décrite, de même que les cellules oesophagiennes superficielles et celles dites aujourd'hui parabasales, les cellules bronchiques ciliées, les cellules à poussières, les macrophages.

La description des éléments cancéreux est moins précise mais les dessins joints à l'article mettent parfaitement en évidence les gros noyaux, leurs nucléoles, les vacuoles du cytoplasme. Les cellules "en tétard" des cancers oesophagiens sont décrites et dessinées avec tous leurs caractères.

Le travail de MARINI porte sur 37 cancers gastriques ou oesophagiens mais aucune statistique n'est fournie. Toutefois six observations relatent l'existence de cellules cancéreuses dans les liquides retirés de l'estomac.

Le travail de LOEPER et BINET marque l'avènement en France de la cytologie gastrique. En effet, dès 1911, ces auteurs publient une assez longue étude portant non seulement sur les cancers gastriques, mais aussi sur les gastrites, les ulcères et les diverses dyspepsies.

Le malade à jeun depuis la veille au soir est tubé, son estomac vidé puis lavé avec 250 cc. d'eau ou mieux de sérum physiologique qui est rejeté. Un deuxième lavage avec 250 cc. de sérum est centrifugé et le culot étalé.

Les frottis sont examinés soit à l'état frais, soit "après coloration à l'hématéine-éosine ou au bleu de toluidine associé ou non aux colorations acides connues".

Les auteurs signalent la rareté des cellules gastriques dans les estomacs normaux et leur abondance dans les ulcères et dans certaines gastrites.

Les cellules cancéreuses sont "des éléments épais, prenant de façon intense les colorations à l'hématéine-éosine et au bleu de toluidine, dont les contours sont mousses, mais bien arrêtés, dont les noyaux volumineux et chargés de chromatine sont parfois doubles ou même triples". Les dessins que comporte l'article révèlent de plus dans les noyaux la présence d'un ou deux nucléoles "exubérants".

Dans 7 cancers gastriques les auteurs ont pu mettre en évidence des cellules cancéreuses.

La dernière étude, celle de SIMON et CAUSSADE reprend la technique décrite par LOEPER et BINET. Elle est remarquable par la description de la cellule cancéreuse, plus grosse, de forme "bizarre" (terme qu'utilisent les auteurs américains modernes), intensément colorable. Le noyau arrondi ou allongé, remplissant parfois toute la cellule, est vivement coloré par l'hématoxyline qui y révèle la présence d'un ou de plusieurs nucléoles et de nombreux grains de chromatine. Les figures de mitoses sont rares, les noyaux multiples relativement fréquents. Dans les placards cellulaires les noyaux sont "accolés" et "empilés" par leurs bords (le "crowding" et le "pilling" des cytologistes américains). Les auteurs signalent les allures pseudo-cancéreuses des cellules enflammées, et la minime exfoliation des squirrhés dont le "diagnostic cytologique est aléatoire".

Au total, sur 38 malades examinés et comportant 25 cancers, 24 fois le diagnostic cytologique fut possible. Il n'y eut qu'une seule réponse faussement positive sur les 13 autres malades.

Ainsi, dès le début du siècle, trois études avaient mis à peu près complètement la technique au point et avaient décrit la cytologie cancéreuse gastrique. L'avènement de la radiologie allait arrêter à peu près totalement toutes ces recherches.

En Amérique toutefois, ZEMANSKY publie en 1928 une étude portant sur l'examen de 2000 liquides organiques parmi lesquels 28 liquides gastriques. Ceux-ci sont traités par centrifugation et le culot recouvert de formol à 10 % pendant 34 heures durcit suffisamment pour subir ensuite les techniques histologiques d'inclusion et de coloration à l'hématoxyline-éosine.

Ce n'est que dans 4 cas (sur 28 examens) que l'auteur a pu mettre en évidence des cellules cancéreuses. La vérification histologique n'a été possible que dans 5 cas dont l'un avait donné lieu à un cyto-diagnostic positif.

Enfin, FRISHMANN et GORIN publient en 1942 à Moscou un travail portant sur l'examen du sédiment gastrique de 70 malades dont 45 cancers. Dans 25 cas, ils trouvèrent des cellules cancéreuses soit 44,4 %. Par ailleurs, il n'y eut aucune réponse faussement positive.

Les travaux actuels portant sur la Cytologie Gastrique dérivent de ceux entrepris par PAPANICOLAOU, depuis 1917 et appliqués en 1946 à l'estomac. A cette date, un court article rapporte 13 examens de liquides gastriques et duodénaux. Les réponses furent positives dans 2 cas, un adénocarcinome et un épithélioma colloïde. Il n'y eut pas de réponses faussement positives; dans un cas de cancer du pancréas les frottis furent interprétés comme douteux.

Les travaux allaient alors se multiplier en Amérique et en France à partir de 1952.

- II -

LES DIFFERENTES TECHNIQUES

Etude analytique et critique

Pour faciliter l'étude critique des différentes techniques nous les avons analysées non pas successivement mais globalement. D'une manière peut-être un peu arbitraire nous avons considéré que toutes devaient résoudre trois problèmes :

- celui du prélèvement
- celui de la préparation des frottis et des coupes
- celui de la coloration.

Ces trois problèmes seront l'objet de trois chapitres différents.

A.) Le PRELEVEMENT

/ GENERALITES :

Organe profond et bien défendu par les zones réflexogènes de l'oeso-pharynx, l'estomac n'est pas d'un abord facile et les prélèvements y seront toujours très indirects.

Cette difficulté est loin d'être la seule et trois autres viennent s'ajouter : la "barrière muqueuse", les altérations cellulaires et les cellules exogastriques.

a) La "Barrière muqueuse"

L'exfoliation cellulaire prend dans l'estomac un caractère spécial. En effet la muqueuse est recouverte d'une couche de mucus épaisse de plusieurs millimètres, particulièrement visqueuse et qui isole parfaitement la paroi. C'est sous ce manteau de mucus que s'exfolient les cellules sans pouvoir s'accumuler en certains points comme dans le cul de sac postérieur en cytologie génitale.

b) Les altérations cellulaires.

Organe digestif, l'estomac ne constitue pas un milieu favorable à la conservation cellulaire. Dès le premier coup d'oeil sur un frottis gastrique on est frappé par la quantité de matériel cellulaire altéré inreconnaissable qui noie les rares cellules encore en bon état.

c) Les cellules exo-gastriques

Provenant de l'oesophage, de la bouche, des bronches une grande quantité de cellules exogastriques est déglutie et vient masquer par son abondance les éléments intéressants.

./ PREPARATION DU MALADE :

Tous les auteurs ont utilisé le tubage chez un malade à jeun depuis la veille au soir. Certains ajoutent même la diète liquide le jour précédant l'examen.

PAPANICOLAOU, POLLARD, BLOCK et HALL recommandent l'aspiration continue la nuit précédant le tubage.

Le jeûne de 12 heures est largement suffisant pour des malades ne présentant pas de signes cliniques ni radiologiques de sténose du pylore. Dans le cas contraire tout doit être mis en oeuvre pour obtenir un estomac propre.

L'aspiration continue pendant 12 à 24 heures comme le recommandent LEMON, RUBIN, PALMER et KIRSNER est sûrement utile, mais elle est difficilement acceptable pour un malade hospitalisé en médecine. Les grands lavages gastriques à l'eau bicarbonatée et au tube de FAUCHER répétés plusieurs jours de suite ne nous ont pas toujours donné pleine satisfaction. La diète liquide pendant plusieurs jours est évidemment utile dans ces cas. PAPANICOLAOU applique pendant plusieurs jours ainsi que l'aspiration continue nocturne.

Quelques auteurs ont pratiqué des anesthésies de la gorge du type de celles utilisées avant une gastroscopie. C'est une solution de TETRACAINE (PANTOCAINE) à 2 % que PAPANICOLAOU utilise en badigeonnages de l'arrière-bouche.

Dans le seul cas où nous avons fait usage de DELCAINE il a fallu attendre la fin de l'effet anesthésique pour passer le tube. RUBIN (communication orale du Pr. CONTE) recommande l'usage d'une solution de PYRIBENZAMINE à 1 % en gargarisme anesthésiant. Ayant plusieurs fois utilisé des gargarisme additionnés de 5 centigrammes de Phénergan nous les croyons inutiles.

Un rinçage de la bouche à l'eau pure est souvent conseillé, il élimine de nombreuses cellules buccales.

Les sondes utilisées sont des types les plus divers, tube de FAUCHER, sondes d'EWALD, d'EUDEL, de REHFUSS, de LEVINE à laquelle FREMONT SMITH et ses collaborateurs recommandent de percer quelques trous supplémentaires.

Pratiquement, pourvu que les orifices soient assez gros et la sonde opaque aux rayons X n'importe quel modèle suffit.

Certains lubrifient la sonde avec des huiles végétales, minérales, d'autres avec une solution salée ou sucrée, ou avec de la glycérine. Les auteurs français insistent sur la nécessité d'agir avec douceur et patience. C'est, à notre avis, la meilleure pré-médication.

III./ PRELEVEMENT PROPREMENT DIT :

Cette phase est dominée par la "barrière muqueuse" et la gêne qu'elle apporte au recueil des cellules et par les altérations cellulaires qui atteignent un grand nombre d'éléments.

a) La Barrière Muqueuse

1^o) L'aspiration simple a été utilisée depuis plus de 50 ans. La sonde en place, on se contente de prélever les liquides toujours présents dans l'estomac à jeun ce qui entraîne un peu de mucus riche en cellules. Certains, comme CAMPBELL et GRIMM, déclarent avoir utilisé avec d'assez bons résultats de repas d'EWALD.

Mais à peu près tous les auteurs qui ont utilisé l'aspiration simple reconnaissent implicitement ou explicitement l'insuffisance de cette méthode et tous, ou presque, l'associent au lavage.

2^o) Celui-ci complète heureusement celle-là, certains rejetant même purement et simplement les liquides d'aspiration simple et limitant leurs études aux liquides de lavage. Les premières publications de PAPANICOLAOU, celles de FREMONT-SMITH, de BRYANT, de BOTSFORD, d'IMBRIGLIA, de LEMON recommandent ce procédé qui est celui utilisé en France par DEBRAY et LAUMONNIER et par FONTAINE, KLEIN et BOLLACK.

La quantité de liquide injecté est essentiellement variable, entre 20 cc pour BOTSFORD et 500 pour ROSENTHAL.

Trois liquides retiennent l'attention des auteurs : l'eau pure, le sérum salé dit physiologique à 8 ou 9 o/oo et le liquide de Ringer que PAPANICOLAOU estime dans toutes ses publications préférable au sérum salé.

Personnellement, nous ne pensons pas que l'examen du liquide gastrique prélevé avant le lavage ait un gros intérêt, nous l'avons systématiquement rejeté. C'est le sérum physiologique à 9 o/oo et parfois le RINGER que nous avons utilisé. Nous verrons d'ailleurs plus loin les problèmes que pose la qualité des liquides vecteurs. Leur quantité varie essentiellement avec le volume de prélèvement que l'on se propose de retirer et avec l'importance de la continence ou de l'incontinence pylorique. Dans nos prélèvements nous avons utilisé une quantité de liquide comprise entre 100 et 500 cc. environ.

5^e) La faible solubilité du mucus dans les liquides de lavage a incité certains auteurs à rechercher d'autres techniques visant soit à l'augmentation de cette solubilité, soit à augmenter l'exfoliation cellulaire au sein du mucus.

1.- C'est l'injection d'histamine qui déclenche une congestion muqueuse avec hypersécrétion que RICHARDSON a utilisé dans 78 cas. POLLARD et ses collaborateurs qui ont appliqué ce procédé dans un "but de comparaison" l'ont finalement abandonné. SEYBOLT et COOPER le déconseillent comme inefficace.

2.- Trois auteurs ont essayé la solubilisation du mucus, HOLLANDER, PAPANICOLAOU et ses collaborateurs, ROSENTHAL.

HOLLANDER après avoir expérimenté sur des chiens l'effet de badigeonnages gastriques avec des émulsions d'Eugénol à 5 % qui déclenchent très rapidement une intense desquamation cellulaire, propose l'utilisation chez l'homme d'émulsions d'Eugénol à 2 %. Après vider le tube gastrique, il injecte 200 cc. de cette émulsion qu'il retire au bout de 15 minutes. Puis, pendant une heure, il prélève toutes les 15 minutes quatre nouveaux échantillons.

Bien que l'auteur insiste sur l'inocuité de cette technique, il rapporte que dans un cas l'injection fut suivie d'une douleur épigastrique avec pâleur, sueurs profuses et perte de conscience, ce qui n'empêcha nullement le tubage d'être repris après avoir retiré environ la moitié de l'Eugénol injecté. Toutefois les microphotographies de muqueuses gastriques de chien badigeonnées - avec la solution à 5 %, il est vrai - montrent l'existence d'une intense gastrite interstitielle.

La richesse des prélèvements en cellules isolées et en placards cellulaires est remarquable.

Néanmoins, SEYBOLT, PAPANICOLAOU et COOPER déclarent "avoir reculé devant la solution à 3 % d'Eugénol" et s'ils ont expérimenté une solution à 1 % ils n'en estiment pas les résultats satisfaisants. DORVAULT, dans "l'Officine", édition de 1928, signale l'emploi de cette drogue à des doses ne dépassant pas 1 gramme par 24 heures soit cinq fois moins que la dose conseillée par HOLLANDER.

PAPANICOLAOU, SEYBOLT et COOPER signalent sans commentaire avoir essayé une émulsion de "caroid" pour dissoudre le mucus.

ROSENTHAL, en Octobre 1951, puis dans un article avec TRAUT, a publié une technique de solubilisation enzymatique de la "barrière muqueuse". Ces auteurs utilisent une solution fortement tamponnée dont la composition est la suivante :



- Phosphate disodique	16 Grammes
- HCl normal	20 cc.
- H ₂ O	1000 cc.

Le pH de cette solution est d'environ 7,2, sa pression osmotique d'environ 350 milliosmoles. A 500 cc. de ce milieu on ajoute extemporanément 10 grammes de Papaïne et 3 grammes de chlorhydrate de cystéine (qui joue le rôle d'activant de l'enzyme). Cette solution est alors injectée dans l'estomac préalablement vidé de tout liquide. On la retire 8 à 10 minutes plus tard.

ROSENTHAL déclare n'avoir sur un millier de malades, jamais observé d'accidents. En tous cas ses résultats sont remarquables quant à la richesse des prélèvements en éléments cellulaires.

Les doses indiquées par le Codex pour la Papaïne étant dix fois plus faibles nous n'avons pas osé appliquer cette technique qui doit, dans un certain nombre de cas léser assez gravement la muqueuse gastrique.

Enfin, il est vraisemblable que la papaïne ne limite pas son action au mucus, mais doit l'étendre aux cellules exfoliées, c'est, du moins, l'opinion de PAPA-NICOLAOU (communication orale du Pr. CONTE).

42) L'abrasion directe de la muqueuse est un procédé très satisfaisant qui a été proposé en 1949 par GLADSTONE, par ANDERSEN, MAC DONALD et OLSEN et par PANICO et PAPANICOLAOU en 1950.

1.- GLADSTONE dans une très courte série portant sur 3 ou 4 cancers, a utilisé la technique suivante : 9 à 15 éponges de cellulose synthétique de 1x0, 5x0, 5 cm sont disposées tous les deux centimètres et demi sur un fil de soie qui est dégluti, ou, ce que l'auteur préfère, est enroulé sur les trente centimètres distaux d'une sonde de LEVINE. Celle-ci par sa rigidité, facilite la déglutition de l'ensemble. Après avoir massé vigoureusement la région épigastrique du malade, on retire les éponges qui sont fixées au formol à 10 %, puis traitées par les procédés histologiques habituels. Les microphotos que présente l'auteur montrent d'importants lambeaux d'épithélium superficiel, recouvrant un chorion bien visible.

2.- La technique proposée par ANDERSEN, MAC DONALD et OLSEN est un peu différente. Il s'agit d'un prélèvement direct par tampon monté, au cours de l'oesophagoscopie ou de la gastroscopie, dans ce cas de la gaze est enroulée autour du gastroscope, au dessus de l'optique.

Les résultats sont excellents dans les cancers cardiaux ou tubérositaires, mais ils sont franchement mauvais dans les cancers du corps et de l'antrum gastrique. En tous cas la sujétion de l'endoscopie retire à cette méthode une grande partie de son intérêt.

3.- PANICO et COOPER préconisent un véritable tubage que l'on pratique avec un "tube à double lumière de 1 mètre de longueur, marqué à 45, 60 et 75 cm. Une lumière, celle d'aspiration, est en relation à son proximal avec une seringue, à son bout distal avec une olive. L'autre lumière est en relation à son bout proximal avec une poire en caoutchouc, à son bout distal avec un ballon gonflable. Le ballonnet est constitué par un condom ouvert à ses deux extrémités. La surface externe est recouverte par une voilette dont les mailles d'environ 3 mm. sont garnies de petites floches de soie (silk brushes) de 2 mm. de long. Les extrémités du ballon sont fixées au tube par un fil de soie à environ 8 cm de distance. Lorsque le ballon est dégonflé il se collabe sur le tube, lorsqu'il est gonflé de 175 cm³ il mesure 10x5 cm."

La sonde est introduite avec le ballon dégonflé jusqu'à 60 cm., ce qui permet d'aspirer les liquides qui se trouvent dans l'estomac à jeun. Elle est ensuite enfoncée jusqu'à 75 centimètres et l'olive, poussée par le péristaltisme, atteint l'antre où le ballon est gonflé.

L'ensemble est alors retiré jusqu'au cardia tandis que l'on exerce une aspiration "douce et continue" par la tubulure correspondante. La manoeuvre est répétée plusieurs fois pendant l'heure du prélèvement, puis l'ensemble est rapidement retiré, le ballon dégonflé. "Il est immédiatement plongé dans la liquide de Ringer et envoyé au laboratoire". où "les fragments de tissu que l'on peut récolter sur les floches de soie sont prélevées à la pince et directement étalés sur lames." Après ce prélèvement, le ballon est à nouveau plongé dans le Ringer où il est agité pour disperser dans le milieu toutes les cellules qui y adhèrent.

La petite série publiée dans l'article dont nous avons extrait ce qui précède met en évidence la supériorité de ce procédé sur l'aspiration simple ou le lavage. Les liquides recueillis pendant le tubage et ceux ayant servi au rinçage du ballon sont de valeur diagnostique sensiblement égale. Les particules prélevées directement sur la résille sont de lecture facile, mais relativement rares.

Publiant en 1953 une série beaucoup plus importante, PAPANICOLAOU et COOPER apportent à ce procédé quelques modifications.

Après vidange de l'estomac on pratique une injection d'histamine, la sécrétion provoquée est soigneusement aspirée pendant 30 minutes, afin de bien laver la paroi. On gonfle alors le ballon que le péristaltisme conduit au pylore en 5 à 10 minutes où il est dégonflé. Nouveau gonflage, et le ballon dans cet état est retiré jusqu'au cardia. On répète 5 à 6 fois cette manoeuvre pendant 30 minutes, puis la sonde est enlevée et le ballon soigneusement rincé dans du liquide de Ringer sur

lequel porte l'examen cytologique. Dans les cas difficiles et qui réclament un important matériel cytologique, les liquides prélevés pendant le tubage sont aussi examinés.

Les travaux de SICARD et de ses collaborateurs confirment les bons résultats de ce procédé qu'ils modifient légèrement par l'injection pendant la durée du tubage d'environ 500 cc. de liquide.

Le Pr. CONTE nous a rapporté la technique utilisée en 1951 par RUBIN. Celui-ci préfère l'ingestion par la bouche de liquide de Ringer glacé et rince le filet dans la même solution de Ringer additionnée de carbonate de soude à 1 %.

Nous reviendrons plus tard sur les détails de ce procédé que nous avons utilisé dans plus de 70 cas, mais nous voudrions, dès maintenant faire à son propos deux remarques :

a) Il semble que le terme d'"abrasive balloon" ne corresponde pas tout à fait à la réalité. La barrière muqueuse est bien trop visqueuse, trop épaisse, pour que l'on puisse espérer la moindre abrasion pariétale. En réalité le mucus adhère simplement au filet. Ce dernier l'entraîne dans la lumière gastrique où les liquides de lavage le dissolvent légèrement. La richesse en éléments cellulaires est semble-t-il assez proportionnelle à la quantité de liquide injectée; malheureusement les capacités des centrifugeuses de laboratoire apportent dans ce domaine une limite impérative.

b) Des vérifications radioscopiques nous ont révélé que dans bien des cas le ballon ne quitte pas la grosse tubérosité et le fundus et pourtant l'expérience montre que les cancers antraux sont diagnostiqués avec la même fréquence que les cancers tubérositaires. La seule interprétation que nous puissions envisager est celle d'un véritable moulage de l'estomac sur le ballon qui entre ainsi en contact avec la totalité de la paroi gastrique.

b) Les altérations cellulaires

Elles constituent la difficulté majeure de la cytologie appliquée au diagnostic des cancers gastriques et relèvent de trois facteurs : les diastases du suc gastrique, les diastases endocellulaires, l'allotomie des milieux.

C'est essentiellement l'activité des diastases endocellulaires et la pepsine qui a retenu l'attention des auteurs.

1°) L'alcalinisation des milieux - pour limiter l'action de la pepsine - est un procédé recommandé par RUBIN qui additionne les liquides extraits de l'estomac d'une certaine quantité de carbonate de soude jusqu'à neutralisation vérifiée au papier de tournesol. LEMON utilise un procédé analogue.

SEYBOLT et PAPANICOLAOU après avoir expérimenté une solution à 1,3 % de bicarbonate de soude n'en recommande^{nt} pas l'emploi.

Ce procédé, que nous avons utilisé, outre qu'il est peu pratique, oblige à diluer les liquides et à centrifuger de plus importants volumes, ce qui n'est pas toujours possible. Enfin, les reflux gastriques de liquide duodénal apportent toujours une certaine quantité de trypsine dont l'alcalinisation favorise l'activité.

TOMENIUS fait parvenir dans l'estomac une solution bicarbonatée à 1,3 % par un système de perfusion continue et d'aspiration discontinue. Il associe une aspiration oesophagienne, duodénale et parfois buccale, pour prévenir la pollution de l'estomac par des éléments étrangers. Ce procédé assez désagréable pour le malade présente tous les inconvénients de l'alcalinisation.

2°) La réfrigération possède sur l'alcalinisation l'avantage du blocage global de toutes les diastases, pepsine, trypsine, cathepsine, et des enzymes endocellulaires. Au dessous de 10° toutes les activités diastasiques sont pratiquement suspendues. RUBIN préconise ainsi l'usage de RINGER glacé pour les lavages gastriques, LEMON recueille les prélèvements sur de la glace.

PAPANICOLAOU juge cette précaution inutile et il est certain que de nombreux auteurs se sont passés de toute alcalinisation et de toute réfrigération et que leurs résultats valent ceux des autres.

Ainsi FREMONT-SMITH et ses collaborateurs, ULFELDER et GREEN (qui signalent qu'après 30 minutes un prélèvement est inutilisable) IMBRIGLIA et ses collaborateurs.

Ayant réfrigéré systématiquement nos prélèvements, nous avons pu nous rendre compte des faits suivants :

- 1./ L'injection de liquides glacés est à peu près inutile. Ou bien l'on réaspire les liquides encore à basse température, mais ils sont très peu riches en cellules. Ou bien l'on attend quelques minutes et, dans ces cas, leur température est de 37°.
- 2./ La réfrigération que procure la glace fondante disposée autour des tubes est suffisante à obtenir en quelques dizaines de secondes une température de 2 à 3° dans les prélèvements, puisque c'est toujours par petites quantités de 0,5 à 10 cc. au plus que les liquides sont extraits de l'estomac.

3./ Par contre, la centrifugation élève considérablement la température des prélèvements entre 15° et 22° suivant la durée. Ces chiffres expliquent probablement les bons résultats des auteurs n'utilisant pas la réfrigération.

3°) Les techniques de fixation immédiate échappent à cette critique. C'est le procédé de PAPANICOLAOU qui est généralement utilisé : addition immédiate aux prélèvements d'un égal volume d'alcool à 95° (préférable au mélange alcool-éther).

Citons parmi les partisans de cette méthode : POLLARD et ses collaborateurs, BOTSFORD et ses collaborateurs, SWARTZ et ses collaborateurs.

Les dernières publications de PAPANICOLAOU, utilisant le ballon abrasif mentionnent l'addition de 40 % d'alcool à 95° au liquide de rinçage du filet (Ringer).

Nous reprochons à ce procédé, en dehors de son importante consommation d'alcool, l'augmentation du volume à centrifuger, et la coagulation des mucus qui gêne souvent la sédimentation cellulaire et parfois opacifie considérablement le frottis.

Il faut pourtant reconnaître qu'il bloque parfaitement l'activité des enzymes endo- et exo-cellulaires.

Dans le même ordre d'idées PAPANICOLAOU avait essayé de fixer in situ les éléments cellulaires en injectant dans l'estomac de l'alcool dilué. Il ne semble pas avoir obtenu de très bons résultats. Par contre, RICHARDSON recommande ce procédé qu'il associe à l'inclusion des prélèvements. L'injection "d'eau saturée d'éther" a dû être abandonnée par HOLLANDER en raison du "discomfort" accusé par les malades.

4°) Nous avons omis une recommandation capitale pour tous les auteurs, la rapidité de la manipulation, après 30 minutes un prélèvement est altéré, il est inutilisable après 1 heure. On peut se passer de toute autre précaution à condition de manipuler très rapidement. Moins de 20 minutes doivent s'écouler entre l'extraction du liquide et sa centrifugation. Il y a toujours intérêt à travailler dans la pièce où se trouve la centrifugeuse.

B.) La PREPARATION DES LAMES

ENRICHISSEMENT DES PRELEVEMENTS :

Les liquides retirés de l'estomac par quelque technique que ce soit sont toujours très pauvres en cellules gastriques. Plusieurs examens à l'état frais et sans centrifugation ne nous ont jamais permis d'apercevoir que des cellules oesophago-buccales et des leucocytes.

Il est donc de première importance d'enrichir les prélèvements.

CAMPBELL et GRIMM ont préconisé une technique très simple, la sédimentation spontanée des prélèvements pendant plusieurs heures après addition d'alcool.

C'est pourtant la centrifugation que recommande la majorité des auteurs.

PAPANICOLAOU précise que celle-ci doit se faire à 1500 tours-minute pendant 20 à 30 minutes. IMBRIGLIA et ses collaborateurs, ainsi que les auteurs du "Cytologic diagnosis of Cancer" préconisent 2000 tours pendant 20 minutes, d'autres sans préciser la vitesse conseillent une centrifugation de 5 à 10 minutes seulement.

Nous pensons que des vitesses rapides ont l'inconvénient de détruire un certain nombre de cytoplasmes fragiles, mais la viscosité des milieux ne permet pas l'emploi des vitesses lentes. D'autre part, la centrifugation crée quelquefois des pseudo-tissus par juxtaposition cellulaire (presque toujours, il s'agit d'histiocytes). Enfin, la centrifugation détruit le "panorama cytologique" dont parle DELARUE et ORCEL concentrant en même temps les cellules exogastriques et les éléments intéressants qui se trouvent parfois masqués.

FAWCETT VALLEE et SOULE ont proposé en 1950 une technique de centrifugation différentielle destinée à pallier à cet inconvénient. Après une première concentration au 1/10, le liquide à étudier est mélangé à des dilutions salines de sérum bovin dont le poids spécifique est compris entre 1,05 et 1,07.

Une deuxième centrifugation à 500 tours-minute pendant 5 minutes puis à 3000 tours minute pendant 30 minutes est effectuée.

Les éléments cellulaires sont disposés de la manière suivante : Au fond, les hématies, les leucocytes et les débris cellulaires, au niveau de l'interface sérum-solution salée : les cellules cancéreuses.

Ce procédé paraît particulièrement intéressant pour l'estomac car il permettrait d'éliminer les cellules superficielles dont l'abondance est souvent gênante.

Nous nous sommes toujours tenus à des vitesses de l'ordre de 1500 tours-minute pendant une quinzaine de minutes. Notons d'ailleurs que 1 fois sur 10 il est impossible d'obtenir des culots bien formés et adhérents au fond du tube. Il s'agit en général de liquide riches en mucine et très visqueux. Une centrifugation prolongée n'améliore d'ailleurs pas ces culots.

.) LES INCLUSIONS - LES FROTTIS

Les différences techniques assez minimes jusqu'à présent vont s'affirmer suivant que l'on pratique des frottis ou des inclusions.

a) Les inclusions :

Nous ne reviendrons pas sur le procédé de GLADSTONE qui utilise pour le prélèvement des éponges synthétiques auxquelles il fait ensuite subir les procédés habituels de fixation, d'inclusion et de coloration.

SWARTZ, RAGINS, BERNSTEIN et MEYER ont appliqué dans quelques cas l'inclusion des sédiments gastriques. Ils reconnaissent à ce procédé la rapidité de lecture, mais par contre, la partie technique leur semble beaucoup plus longue et délicate que celle des frottis, qu'ils préfèrent finalement.

HUNTER et RICHARDSON additionnent immédiatement les liquides de lavage gastrique d'un égal volume de formol à 10 %, puis ils ajoutent une quantité non précisée d'une solution saturée d'acide picrique pour solidifier les mucus. Ils "filtrent et déshydratent lentement" ensuite avant d'appliquer les procédés d'inclusions habituels. Les coupes sont pratiquées à trois niveaux différents du bloc et colorées à l'hématoxyline, éosine, orange G. Les auteurs estiment être arrivés par ce procédé à diagnostiquer les gastrites, les ulcères et les cancers - ces derniers dans plus de la moitié des cas. Les microphotos jointes à l'article sont particulièrement remarquables et montrent dans chaque cas une assez importante surface de chorion intortubulaire.

En France, DEBRAY et LAUMONNIER ont inclus dans la paraffine les culots de centrifugation préalablement recueillis dans une bourse constituée par de la membrane amniotique. Leur série comporte de beaux résultats et les images qu'ils présentent révèlent une parfaite conservation d'assez grands lambeaux muqueux.

SATTENSPIEL qui a utilisé concurremment les frottis et les inclusions pour l'étude des liquides d'ascite commente ainsi les avantages de l'une et l'autre méthode.

Frottis :

1°- "Meilleure coloration des noyaux. Les structures nucléaires sont plus distinctes, ce qui facilite le diagnostic en l'absence de formations acineuses."

2°- Moins de rétractions cellulaires. Les cellules des frottis sont notablement plus grandes que celles des inclusions. Cette rétraction semble relever du fixateur et du fait que le plan de section ne passe pas forcément par le plus grand diamètre des cellules. Il est souvent possible, sur un frottis, de reconnaître au faible grossissement des cellules cancéreuses sans l'aide de formations acineuses.

3°- La proportion de diagnostics positifs est probablement plus grande avec les frottis."

Il est vrai que la série de l'auteur est un peu courte, mais il précise que l'on retrouve mieux sur les frottis que sur les préparations histologiques la minime exfoliation cellulaire d'un petit cancer."

Inclusions :

1°- "Plus grande fréquence des dispositifs acineux ou papillaires. Dans les cas positifs, l'inclusion révèle mieux les formations glandulaires que les frottis."

2°- Meilleure concentration cellulaire sur une petite surface ce qui rend l'examen plus rapide.

3°- Les cellules sont dans le même plan, ce qui facilite la lecture.

4°- Le procédé est bien connu, tant des laboratoires pour la partie technique, que des Anatomo-pathologistes pour la partie interprétation."

Sans avoir jamais eu l'occasion d'appliquer ces techniques d'inclusion, nous avons plusieurs fois coloré par la méthode de PAPANICOLAOU des coupes histologiques d'estomac. Chaque fois, nous avons été frappés par les altérations nucléaires des cellules gastriques normales. La chromatine est condensée et cerne d'un trait plus sombre la périphérie du noyau qui contient deux ou trois blocs plus sombres. Ces aspects sont totalement différents de ceux que donne la fixation en milieu humide de PAPANICOLAOU. Il est vraisemblable que les fixateurs, l'inclusion dans la paraffine jouent un rôle dans ces modifications qui apparaissent nettement en comparant les microphotographies cytologiques et histologiques du "Cytologic Diagnosis of Cancer".

b) Les Frottis :

Ce sont néanmoins les frottis qui sont utilisés le plus souvent. Ils sont fixés par immersion dans l'alcool-éther. PAPANICOLAOU insiste dans chacune de ses publications sur cette fixation immédiate, avant que les frottis n'aient eu le temps de sécher. Effectivement, le moindre retard entraîne des altérations cellulaires qui rendent les éléments à peu près ininterprétables.

Dans ces conditions de fixation en milieu humide, l'adhérence des cellules à la lame est souvent médiocre et il est préférable de préparer celles-ci par l'albumine de MAYER qui est le produit utilisé par tous les auteurs.

Le liquide fixateur est généralement celui de PAPANICOLAOU, mélange à parties égales d'alcool éthylique à 95° et d'éther sulfurique pur. Un mélange d'alcool méthylique et éthylique donne de moins bons résultats. RUBIN recommande le liquide de SCHAUDINN. HOLLANDER et TOMENIUS se sont contentés d'une fixation par dessiccation à l'air (avant d'utiliser des colorations hématologiques). Il est certain que des fixations à sec ont pu donner satisfaction en cytologie génitale endocrinienne. Quelques frottis gastriques fixés par dessiccation nous ont montré des altérations cellulaires telles qu'elles excluaient toute analyse.

b) Les Colorations :

Seuls parmi les auteurs modernes FRISHMANN et GORIN ont examiné leurs préparations à l'état frais sans coloration ni fixation. Il n'est d'ailleurs pas certain que ce procédé ne puisse en contraste de phase être d'un certain intérêt dans l'examen extemporané des prélèvements pratiqués au cours d'une gastrotomie.

Les colorations utilisées le plus couramment dérivent toutes de la méthode polychromique publiée en 1942 par PAPANICOLAOU. Deux variantes en ont été données, le procédé 268 à l'EA 36 ou 50 et le procédé n° 267 à l'EA 65, encore que PAPANICOLAOU lui-même ait donné de chacun plusieurs versions.

Les prélèvements gastriques, plus que tous les autres riches en mucine réclament une coloration la plus transparente possible. Il importe peu que les cytoplasmes soient franchement basophiles ou acidophiles, mais il est capital de pouvoir distinguer parfaitement les moindres détails du noyau. C'est pourquoi nous croyons l'EA 65 supérieur à l'EA 50 et celui-ci à l'EA 36; ces deux derniers colorant trop intensément les cytoplasmes et les mucus.

Quelques auteurs ont préféré utiliser les colorations histologiques courantes à l'hématéine-éosine qui conviennent parfaitement aux préparations traitées par inclusion.

ANDERSEN et ses collaborateurs recommandent les colorations de WOOLNER et MAC DONALD.

TOMENIUS utilise le plus souvent les colorations de MAY-GRUNDWALD-GIEMSA.

d) Montage :

Les lames colorées sont deshydratées avant d'être montées dans le Baume de Canada. Certains auteurs américains utilisent le "DAMAR GUM" dont nous n'avons aucune expérience.

D'autres préconisent le montage au "Clarite", vernis synthétique que l'on dépose sur les frottis. L'avantage de ce procédé réside dans sa rapidité, mais la conservation des préparations est assez aléatoire, l'examen à l'immersion pas toujours possible, le pointage des éléments intéressants à peu près impossible. Irène BERNARD, CATOR et de LARCLAUSE recommandent un vernissage avec une solution de 10 grammes de colophane dissoute dans 30 cc. de Toluène.

RECHERCHES PERSONNELLES POUR L'AMELIORATION

de CES TECHNIQUES

Nous espérons avoir suffisamment montré toutes les difficultés des techniques de cytologie gastrique.

Deux problèmes ont tout particulièrement retenu notre attention, celui de la solubilisation de la barrière muqueuse, et celui des facteurs entrant en jeu lors des altérations cellulaires.

A) LA BARRIERE MUQUEUSE

Tous nos essais, tant avec la Hyaluronidase, que la Strepto kinase ou la Streptodornase se sont soldés par des échecs. C'est d'ailleurs à la même opinion que ROSENTHAL et TRAUT - dont nous ignorions les travaux - ont abouti. Ils ont expérimenté non seulement ces trois produits mais aussi le Lysozyme et diverses mucinases bactériennes sans résultats.

B) LES ALTERATIONS CELLULAIRES

La difficulté de la Cytologie Gastrique tient certainement pour une grande part aux altérations cellulaires qui sont la règle pour des éléments fragiles comme peuvent l'être les cellules de l'épithélium gastrique. Pour tous les auteurs et pour nous même au début de notre travail, ces altérations relèvent de l'activité diastasique du suc gastrique. Toutes les techniques s'ingénient à limiter son action par divers procédés que nous avons déjà étudiés (alcalinisation, réfrigération, blocage enzymatique par l'alcool).

Dans ce même ordre d'idées nous avons essayé de réaliser ce blocage par l'addition aux prélèvements de sels de métaux

lourds (cyanure de Mercure) qui ont le gros inconvénient de gêner les colorations ultérieures.

C'est une remarque du Dr BERNIER qui orienta nos recherches dans un sens différent en suggérant le rôle possible de l'allo-tonie des milieux.

Deux questions étaient à résoudre :

1^o Les liquides gastriques que nous prélevons possèdent-ils une activité enzymatique capable d'expliquer les altérations cellulaires ?

2^o Ces liquides possèdent-ils un niveau osmotique capable d'expliquer les altérations cellulaires ?

I - Dosages d'activité Enzymatique

Ces dosages ont porté sur la pepsine et la trypsine. Ils ont été pratiqués sur des liquides extraits au cours de nos tubages cytologiques et sur les liquides extraits au cours de tubages pour étude du chimisme tels qu'ils sont pratiqués dans le service du Dr LAMBLING.

a) Nous désignerons sous le nom d'échantillons -ou de liquides- préexistants les prélèvements extraits de l'estomac dès la sonde en place.

Ils sont constitués par un mélange de salive, de liquide duodénal ayant reflué dans l'estomac, et de sécrétion gastrique.

Ils n'ont jamais été utilisés pour des études cytologiques.

b) Nous désignerons sous le nom d'échantillons -ou de liquides- "B" les prélèvements extraits de l'estomac après vidange gastrique complète (c'est à dire après extraction du liquide préexistant)

Ils sont essentiellement constitués par la sécrétion gastrique propre à laquelle vient parfois se mélanger du liquide duodénal de reflux.

Ces liquides n'ont jamais été utilisés pour des études cytologiques. Nous les avons assimilés -avec quelques restrictions- aux échantillons dits cytologiques, quant à leur composition.

c) Nous désignerons sous le nom d'échantillons -ou de liquides- d'études cytologiques (par contraction : échantillons ou liquides cytologiques) les prélèvements extraits de l'estomac au cours de nos tubages pour étude de la cytologie.

Ils sont constitués d'un mélange de liquide de lavage (sérum physiologique ou liquide de Ringer dans quelques cas), de sécrétion gastrique et de liquide duodénal de reflux.

a) Pepsine

Dans tous les cas elle a été dosée par la technique suivante : ⁷ on établit des dilutions de titre connu du liquide gastrique avec une solution tampon dont le pH est compris entre 2 et 3 (90cc de HCl N/10 additionné de 10cc de Citrate de Na à 10 %) Ces dilutions sont mises en présence de bandelettes de film photographique pendant 30 minutes au bain-marie à 37°. La digestion totale du support de gélatine -rendant au film sa transparence- est le témoin de l'activité peptique du milieu.

C'est le taux maximum de la dilution qui attaque encore en totalité la gélatine du film qui sert de mesure d'activité.

En même temps ont été dosés par la technique indiquée par MM. LAMBLING & WELTI l'acidité libre et l'acidité déficitaire: lorsque le réactif de TOPFER ne décèle pas d'acidité libre (virage immédiat au jaune) l'acidité totale est dosée par la méthode habituelle par addition de soude jusqu'au virage de la phénol-phtaléine; par un dosage en retour avec de l'acide chlorhydrique décinormal on dose l'acidité différentielle jusqu'au virage orangé du TOPFER, c'est ainsi que pour les liquides anacides on peut voir apparaître des chiffres négatifs d'acidité libre, ou acidité déficitaire.

Signalons enfin qu'un taux d'acidité déficitaire inférieur à 8 correspond sûrement à un pH inférieur à 4 et qu'un taux d'acidité déficitaire supérieur à 30 correspond sûrement à un pH supérieur à 7.

La constitution relativement simple de la gélatine offre aux enzymes protidolytiques : pepsine, cathepsine, trypsine, une résistance beaucoup plus faible que les membranes cellulaires de constitution essentiellement lipidique. Ce fait

⁷ Tous les dosages d'acidité et enzymatiques ont été effectués sous la direction du Dr BERNIER. La technique du dosage de la pepsine et de la trypsine a été publiée dans les Entre-tiens de Bichat 1953, par le Docteur BERNIER.

écarte l'objection que la digestion de la gélatine n'est peut-être pas le témoin de la digestion cellulaire.

Ainsi placés dans les conditions optima d'activité peptique (pH, température et substrat) nous avons obtenu les résultats rapportés dans le tableau II.

Dans ce tableau, nous avons noté :

1^o Le taux de l'activité peptique (mesuré dans les conditions précisées plus haut), exprimé par le taux de la dilution de liquide gastrique digérant encore totalement la gélatine du film. Ce chiffre exprime donc l'activité maxima de la pepsine.

2^o Le taux de l'acidité libre -A.L.- exprimé en milliéquivalents.

3^o Le taux de l'acidité déficitaire -A.D.- exprimé en milliéquivalents.

4^o Une + signale les échantillons possédant une activité cytolytique réelle dans les conditions du tubage.

Rappelons que les dosages ont porté sur les liquides préexistants, sur les liquides "B" et sur les liquides cytologiques.

Sur les 9 liquides préexistants, 3 seulement présentent une activité peptique maxima atteignant des valeurs efficaces (Obs. N^o 6106, 6114, Bres...).

Sur les 9 liquides cytologiques, un seul possède une activité peptique maxima atteignant une valeur suffisante (Obs. N^o 6106).

Sur les liquides "B", 5 seulement sont dénués d'activité peptique efficace (Obs. N^o 6193, 5849, 5848, 5777, Desm...). Cette proportion relativement élevée de liquides actifs s'explique par deux faits :

1^o Les malades rentrant dans la catégorie "B" ont été choisis en majorité parmi des ulcéreux duodénaux dont on sait que le volume sécrétoire et le taux de la chlorhydrie sont au dessus de la normale.

2^o Les échantillons cytologiques sont le résultat d'un mélange de liquide gastrique et de sérum physiologique dans la proportion de 1 partie de liquide gastrique pour 5 parties de sérum physiologique. ≠ Les échantillons "B" ne seront donc comparables aux échantillons cytologiques que si cette correction de dilution est apportée.

≠ : La sécrétion déclanchée par l'injection d'un demi-milligramme d'histamine s'élève à 200 cc. en 120 minutes, soit 60 cc. en 45 minutes, durée normale d'un tubage cytologique pendant lequel on injecte en moyenne 300 cc. de sérum physiologique.

T A B L E A U I I

N° Observ.	Activ. Pept. maxima	A.L.	A.D.	Acti.cytolyt. réelle
------------	------------------------	------	------	-------------------------

Liquides pré-existants :

Lele....	1/10	0	16	
Bert....	1/2	0	48	
5964	1/1	0	14	
6106	1/64	0	42	+
5833	1/2	0	36	
6114	1/32	10		+
6039	1/8	0	12	
5520	0	0	58	
Bres...	1/400	26		+

Liquides cytologiques et "B" (marqués d'un ⊕)

Coud...	0	0	6	
Berg...	0	0	14	
Bert...	0	0	20	
5964	0	0	16	
6106	1/32	8	0	+
5964	1/1	0	22	
5833	1/2	0	18	
6114	1/10	0	0	
6039	1/8	0	8	
5520	0	0	36	
6193 ⊕	0	0	34	
5959 ⊕	1/50	0	18	
5427 ⊕	1/64	0	20	
5947 ⊕	1/256	36		+
5714 ⊕	1/32	0	10	
6053 ⊕	1/32	16		
5849 ⊕	1/20	10		
6020 ⊕	1/80	54		+
4710 ⊕	1/32	10		
5848 ⊕	1/20	94		
5839 ⊕	1/32	28		
5836 ⊕	1/64	56		
Desm... ⊕	0	0	28	
5769 ⊕	1/160	16		+
Bure... ⊕	1/800	68		+
5699 ⊕	1/64	12		
5763 ⊕	1/64	56		
5711 ⊕	1/100	46		+
5709 ⊕	1/32	12		
Jziq... ⊕	1/64	70		
5777 ⊕	1/25	26		

Dans ces conditions seuls 5 échantillons ont une activité peptique efficace (Cas n° 5947, 6020, 5769, 57II, Bure...)

En résumé sur 9 liquides préexistants trois possèdent une activité peptique capable de cytolyse.

sur 10 liquides cytologiques un seul possède une activité cytolytique

sur 21 liquides "B" cinq possèdent une activité cytolytique.

C'est donc dans 20 % des cas seulement que les altérations cellulaires relèvent de l'activité du suc gastrique (pour les liquides cytologiques et "B").

b) Trypsine

Dans tous les cas elle a été dosée par la même technique que la pepsine, mais les dilutions sont faites avec une solution de carbonate de Soude au 1/1000^e dont le pH est compris entre 7,5 et 8,5)

En même temps l'acidité libre, et le cas échéant l'acidité déficitaire, ont été dosées.

Rappelons que ce n'est qu'au dessus d'un taux d'acidité déficitaire de 30 que, pour les liquides dénués d'acidité libre, nous considérerons atteint pH 7.

Le tableau IV rapporte les résultats que nous avons obtenus. Les notations sont les mêmes que dans le tableau III, et en particulier la première colonne signale toujours l'activité enzymatique dans les conditions optima.

Sur les 7 liquides préexistants, deux seulement présentent une activité tryptique maxima atteignant des valeurs efficaces (cas n° 5964, 5833)

Sur les 8 liquides cytologiques, trois seulement présentent une activité tryptique efficace (cas n° 6230, 5964, 5833)

T A B L E A U I I I

N° Observations	Activ. Trypt.	A.L.	A.D.	activité cytolyt. réelle
-----------------	---------------	------	------	--------------------------------

- Liquides pré-existants

6230				
6230	1/100	34		
5964	1/2000	0	14	+
6106	0	0	42	
5833	1/250	0	36	+
6114	1/80	10		
6039	0	0	12	
5520	0	0	58	

- Liquides cytologiques et "B" (marqués d'un ⊕)

6230	1/2000	32	32	
5964	1/800	0	22	
6106	0	8		
5833	1/250	0	18	+
6114	1/40	0	0	
6039	0	0	8	
5520	0	0	58	
5964	1/128	0	16	+
5959 ⊕	1/250	0	18	
5427 ⊕	1/250	0	20	
5947 ⊕	0	30		
6053 ⊕	1/250	16		
6020 ⊕	1/100	54		
5714 ⊕	1/500	0	10	

Dans l'un de ces cas d'ailleurs (cas n° 6230) la présence d'acidité libre permet d'affirmer l'inefficacité certaine de la trypsine.

Sur les 6 liquides "B" quatre présentent des taux d'activité tryptique efficace (cas n° 5959, 5427, 6053, 5714) En réalité la correction de dilution permet de penser qu'aucun de ces prélèvements n'a de pouvoir cytolytique.

En résumé, sur 7 liquides préexistants, deux présentent une activité tryptique capable de cytolyse.

sur 8 liquides cytologiques, deux possèdent une activité cytolytique

sur 6 liquides "B" aucun ne possède d'activité cytolytique.

C'est donc dans moins de 15 % des cas que les altérations cellulaires relèvent de l'activité enzymatique du liquide duodéno-pancréatique ayant reflué dans l'estomac. (pour "B" et cytologiques).

c) Conclusion

Bien que nous ayons précisé les relations unissant les dosages d'acidité au pH, nous n'avons -sauf dans un cas- pas tenu compte de ces notions d'acidité ionique qui doivent pourtant jouer un rôle important dans la limitation du pouvoir cytolytique des liquides gastro-duodénaux. Il n'est pas moins vrai que 80 fois sur 100 la pepsine, que 85 fois sur 100 la trypsine sont trop peu abondantes pour exercer une action cytolytique.

En nous plaçant dans les plus mauvaises conditions, c'est à dire en supposant qu'aucun échantillon n'ait à la fois d'activité peptique et tryptique, il n'en reste pas moins que dans plus de 65 % des cas les altérations cellulaires ne sont pas dues à l'activité des sucs digestifs.

II - Mesure de Tonicité et Résistances Cellulaires ≠

Quelques dosages de Chlore, Sodium, Potassium, dans les liquides gastriques nous ayant donné une idée approximative de leur niveau osmotique, nous avons essayé de mesurer la

≠ Tous les dosages ioniques et d'acidité ont été effectués sous la direction du Dr BERNIER.

résistance des cellules gastriques plongées dans des milieux de tonicité variable.

a) Mesure de Résistance Cellulaire

Pour réaliser ces mesures il était nécessaire d'obtenir des cellules gastriques "vivantes" et normales et d'éliminer au maximum les facteurs de cytolyse enzymatique.

Nous avons adopté la technique suivante :

- 1° Prélèvement par raclage au bistouri ou à la lame de verre non rodée de muqueuse gastrique provenant de pièces de gastrectomie ≠

Le temps écoulé entre le moment où le chirurgien dépose la pièce sur le plateau, et le prélèvement a toujours été inférieur à 15 minutes.

- 2° Les produits de râclage sont mis en suspension dans des solutions de titre variable, pendant 20 à 30 minutes.

Le volume de ces solutions a toujours été égal à 10 cc et leur température inférieure à 5°

- 3° Les suspensions cellulaires sont centrifugées 5 à 7 minutes à 1500 tours/minute. Dans quelques cas les températures ont été vérifiées immédiatement après la centrifugation : des chiffres de 15 à 20° ont été relevés.

- 4° Etalement sur lames, fixation et coloration de PAPANICOLAOU.

Dans ces conditions l'action des diastases paraît totalement éliminée, la minime quantité qui pourrait se trouver dans l'estomac est diluée considérablement par les 10 cc de la solution où les prélèvements sont mis en suspension. Par ailleurs les diastases endo-cellulaires sont certainement inactives pendant les 20 à 30 minutes de la manipulation puisque la température est inférieure à 5°. La courte élévation de 15 à 20° qu'occasionne la centrifugation, paraît trop brève et trop lointaine des températures optima d'activité diastasique pour entraîner leur activation.

≠ Ces pièces nous ont été fournies par le Dr LOYQUE que nous tenons ici à remercier.

Les lames sont lues sans connaître le titre des solutions et l'on note à propos de chacune d'entr' elle :

- l'état du cytoplasme - sa lyse et son degré
- sa rétraction et son degré
- l'état du noyau - sa ballonnisation et son degré
- l'homogénéisation, l'angulation
- ou la pycnose nucléaire.

Les Altérations par Hypertonie

Elles sont les plus rares sur les frottis. Les aspects cellulaires sont les suivants :

Petites cellules denses, à noyaux rétractés, anguleux, homogènes, clairs ou sombres. Quelques cellules possèdent des noyaux denses, en demi-lune, à concavité dirigée vers le pôle cellulaire élargi qui borde directement la lumière gastrique. L'autre pôle est généralement effilé et aminci. Ces aspects paraissent correspondre assez exactement à ceux décrits dans les atlas cytologiques comme relevant d'altération digestives.

Au delà de 400 milliosmoles les cellules très altérées affectent des formes en étoile, en arraignée, ou de minces rayons de cytoplasme convergent vers un centre dense, mal limité, occupé par le noyau sombre, rétracté et ayant perdu toute structure.

Les Altérations par Hypotonie

Celles-ci sont presque la règle dans les prélèvements gastriques. Très rapidement, parfois dès 280 milliosmoles, et toujours à partir de 260 milliosmoles on note une augmentation générale de la taille cellulaire. Le cytoplasme, plus ou moins rempli de nombreuses petites vacuoles devient flou. Dès ce stade, et parfois le précédant, le noyau tend à se ballonner, il augmente de taille, la chromatine moins dense au centre le cerne d'un trait assez régulier, plus sombre. Il est assez fréquent de noter une ou deux condensations chromatiniennes plus opaques et paraissant quelquefois plus grosses que celles des cellules normales.

En dessous de 250 milliosmoles la cytolyse est la règle, il ne reste plus de la cellule qu'une mince couronne cytoplasmique floue autour d'un gros noyau ballonné. Celui-ci est cerné d'un trait sombre de chromatine, laissant se détacher les condensations qu'il contient sur un fond relativement clair.

Il est évidemment inutile d'insister sur les similitudes entre ces cellules normales en milieu hypotonique et certaines cellules suspectes ou cancéreuses. L'erreur nous paraît possible.

Au delà de 200 milliosmoles enfin le noyau très augmenté de taille a perdu toute structure interne, il est en général nu, le cytoplasme ayant été complètement lysé. C'est l'aspect habituellement rencontré en grand nombre dans les prélèvements gastriques.

Sauf pour des milieux très allotoniques, toutes les cellules ne sont jamais au même stade de cytolyse. Il est habituel de rencontrer des ballonisations discrètes voisinant avec des éléments parfaitement conservés. Dans l'ensemble les altérations commencent à apparaître dans les cellules isolées, celles se présentant sous forme de placards cellulaires résistant plus longtemps. Ce qui nous paraît expliquer la coexistence dans les frottis gastriques de cellules isolées très altérées et de noyaux nus d'une part, avec des lambeaux parfaitement conservés d'autre part. Enfin, même parmi les cellules recueillies dans des solutions normotoniques, il existe un certain nombre de noyaux nus. La centrifugation, l'étalement du sédiment, et leurs traumatismes paraissent la cause inévitable de ces altérations.

Nous avons ainsi effectué une cinquantaine de mesures dans des solutions de ClNa variant entre 68 et 643 milliosmoles (entre 2 et 20 ‰). Nous avons aussi essayé d'autres solutions, Subtosan, liquide tampon de TRAUT & ROSENTHAL, liquide de RINGER, dont nous avons fait varier les propriétés osmotiques par addition d'eau pure ou de solutions salées.

Rappelons que le sérum physiologique à 9 ‰ correspond à 153 milliéquivalents de Cl ou de Na , soit 306 milliosmoles. Le liquide de Ringer correspond sensiblement à 250 milliosmoles, le liquide tampon de ROSENTHAL à 350 milliosmoles.

Ne disposant pour le Subtosan d'autres renseignements que nos dosages ioniques, nous avons admis une pression osmotique de 350 milliosmoles.

Dans le sang l'hémolyse apparaît à 4,5 grammes de ClNa pour mille, soit à 153 milliosmoles, alors que toutes les cellules gastriques sont depuis longtemps réduites à l'état de noyaux nus.

Dans l'ensemble nos mesures de résistance cellulaire situent ainsi la zone d'isotonie des cellules gastriques :

- au delà de 310 milliosmoles, dans tous les cas, il apparaît des lésions importantes du cytoplasme et

du noyau, anguleux et pycnotique.

- en dessous de 260 milliosmoles, dans tous les cas, il apparait pour la majorité des cellules des lésions cytoplasmiques et nucléaires à type de ballonnisation, rarement pseudo-cancéreuses. Ces aspects sont plus fréquents en dessous de 250 milliosmoles.
- entre 260 et 310 milliosmoles il persiste un certain nombre d'altérations associant ballonnisations discrètes, rétractions discrètes. Il existe toujours un certain nombre de noyaux nus. Les manoeuvres brutales de la centrifugation et de l'étalement, l'inégale résistance osmotique des différentes cellules en paraissent responsables.

Il découle de ces mesures un certain nombre de conclusions:

- 1° Même dans les conditions optima, écartant toute hypothèse d'altérations enzymatiques ou par allotonie, il apparait techniquement impossible d'obtenir des frottis parfaits; il subsiste toujours un certain nombre de noyaux nus, de ballonnisations et de rétractions.
- 2° Le liquide de RINGER conseillé par PAPANICOLAOU n'est pas, à pression osmotique équivalente, supérieur au sérum salé. La formule habituelle à 7 grammes de ClNa , 0 gramme 20 de CaCl_2 , 0 gramme 10 de KCl pour 1000 cc ne possède pas un niveau tonique suffisant -250 milliosmoles seulement- et les ballonnisations y sont la règle. Une formule comportant 8 grammes de ClNa paraît beaucoup plus convenable.
- 3° Le Subtosan est nettement hypertonique, mais il est vraisemblable que la dilution par les liquides gastriques devrait le ramener à l'isotonie.
- 4° La solution de ROSENTHAL & TRAUT paraît devoir supporter les mêmes critiques que le Subtosan.

II Mesures des Pressions Osmotiques des Liquides Gastriques

Connaissant les limites de tonicité compatibles avec une bonne conservation cellulaire, l'étude de la tonicité des milieux gastriques devenait possible.

Nos dosages portent sur deux séries de malades, ceux à qui ont été faits des examens cytologiques (8 malades) et ceux dont les tubages ont été pratiqués pour étude du chimisme (50 malades).

Pour chacun nous avons dosé le chlore, le sodium, le Potassium exprimés en milliéquivalents, ainsi que l'acidité libre, totale et déficitaire lorsqu'elle existait.

Nous avons négligé le dosage des ions Ca et Mg qui dans quelques mesures n'ont jamais dépassé 4 milliéquivalents par litre.

La pression osmotique exprimée en milliosmoles est égale à la somme des ions répartis dans le liquide et d'autre part, la somme des anions -en milliéquivalents- est égale à la somme des cations en milliéquivalents. Il suffit donc, pour calculer la pression osmotique de connaître soit la valeur des anions, soit la valeur des cations, car il s'agit toujours de corps monovalents.

Lorsqu'il existait une acidité libre nous avons basé les calculs sur le taux de chlore, seul cation existant.

Lorsqu'il n'existait pas d'acidité libre, et pour tenir compte des bicarbonates, les calculs ont été basés sur le taux des anions (Na + K).

L'analyse des résultats du tableau IV révèle plusieurs faits :

- a) La diminution fréquente des pressions osmotiques des liquides cytologiques par rapport aux liquides pré-existants et ceci malgré l'injection de sérum physiologique à 306 milliosmoles. Il semble s'agir d'une dilution par la salive -très pauvre en sels- associée à une rapide fuite pylorique du sérum physiologique injecté.
- b) Les liquides cytologiques ne possèdent que dans deux cas un niveau tonique satisfaisant de 303 et 302 milliosmoles. Les frottis étaient d'ailleurs riches en cellules gastriques bien conservées.
Six cas sont nettement hypotoniques, un seul est hypertonique.

Des malades dont le sédiment n'a pas été examiné cytologiquement complètent cette série trop courte.

Ils révèlent de manière encore plus nette l'hypotonie générale des liquides gastriques.

Nous les rapportons dans le tableau V.

- Sur 47 liquides préexistants := 7 seulement sont isotoniques
= 39 sont hypotoniques
= 1 est hypertonique.
- Sur 48 liquides "B" : = 8 seulement sont normotoniques
= 37 sont hypotoniques
= 3 sont hypertoniques.

T A B L E A U I V

- Liquides pré-existants :

Nº observ.	Cl	Na	K	A.L.	M.osmoles
3458	86	67	12,2	8	172
5964	124	105	51	0	312
De Po...	120	161	18,8	0	356
6106	106	121	11,5	0	265
5833	88	90	22,9	0	225
5989	118	116	15,5	0	263
5993	88	108	24,4	0	264
6039	156	160	3,3	0	326
5520	50	80	24,5	0	209

- Liquides cytologiques :

3458	74	52	9,7	12	148
5964	120	101	5	0	212
De Po...					
6106	110	91	12,8	8	220
5833	90	83	19	0	204
5989	88	65	19,2	12	176
5993	122	145	6,8	0	<u>303</u>
6039	148	147	4,2	0	<u>302</u>
6012	162	154	10,1	0	<u>328</u>
5520	60	80	15,7	0	181

T A B L E A U V

Echantillons pré-existants

Echantillons "B"

N°	A.L.	Na	Cl	K	M.osm.	A.L.	Na	Cl	K	M.osmoles
5598	44	53		16,5	139	70	42	136	13,5	272
5619	12	83	126	15,8	252	38	66	128	15,5	256
5604	0		82		164	10		110		220
5601	38	68	118	14	236	40	73	134	16	268
5628	0					28		126		252
UZIQ..	52		116		232	70		120		240
5709	14	65	100	19	200	12	65	102	19	204
5711	36	57	126	17	252	46	57	130	16	260
5763	56	46,5	118	17,5	236	56	48,5	120	17	240
5699	12	74	116	12	232	12	82	114	12,5	228
5777	24	71	126	13	252	26	93	132	13	264
5700	40	56	122	14,5	244	66	38	126	15	252
5723	0	96		16,5	255	0	100		18	236
5736	32	84	136	16,7	272	26	88	128	14,7	256
5733	0	66	110	19,7	167,4	0	74	94	18	184
5772	54	49	122	15,5	244	90	36	142	14	284
5759	28	45,5	96	16	192	16	40	80	15,7	160
DesV..	0	63	22	20,3	166,6	6	62	96	18	192
5774	48	36	126	15	252	90	34	142	15	284
Chap..	28	59	106	13,7	212	58	40	118	15,5	236
Bure..						68	43,5	128	15,5	256
5769	0	67,5	100	17	169	16	96	104	13	208
Mauj..	20	63	96	19	292	78	37	112	15,7	224
5835	26	55	116	19,3	232	40	54	122	21	244
Desm..	0	81	92	16,5	195	0	76	72	17,8	187,6
5836	54	65	122	14	244	56	57	122	13,5	244
5839	12	66	90	14,5	180	28	54	92	14,7	184
5848	72	43,5	122	15,5	244	94	32,5	130	15	260
014	0	120,5	62	14	276	0	113,5	86	13,7	254,5
5873	0	59		20	158	50	56,5		16	145
5876	0		68		166	0		74		178
230	68	33,5	114	13,2	228	70	50	118	8,7	236
710	0	77,5	74	17,5	190	10	67	88	17,5	176
020	66	63	132	15	264	54	62,5	128	18,7	256
639	0	126	112	32	316	0	113	120	21,2	268,4
848	0	67	86	18,3	170,6	10	74	108	5,4	216
832	0					0				
053	22	82	116	16,8	232	16	89	114	12	228
714	0	70,5	68	16,1	173,2	0	65	70	15,6	141,2
947	28	79	104	18,4	208	30	63	100	14,8	200
472	0	124	104	24	296	0	158	116	12,2	340,4
263	0	126	116	13,6	279,2	0	144	128	11,2	310,4
679	0	94	74	18,5	225	0	84	84	17,1	202,2
127	0	114	98	19,6	267,2	0	124	108	17,1	282,2
427	0	81	82	21,2	204,4	0	63	88	20,8	167,6
959	0	98	96	14,8	225,6	0	84	120	12,5	193
013	0				194	0		70		170
338	0	106	92	24	260	0	129	102	16,2	290,4
080	0	96	84	21,6	235,2	0	139	100	22,1	322,2
193	0		72		174	0	94			

Il est donc possible d'admettre dans l'ensemble que plus de 80 % des liquides gastriques présentent des niveaux toniques incompatibles avec une bonne conservation cellulaire.

III - Conclusion

Deux notions paraissent découler de ces recherches :

- a) Si les 3/10^e des prélèvements sont dénués d'activité tryptique ou peptique, les deux enzymes ne sont simultanément inactifs que dans 2/3 des cas.

Ils peuvent donc être responsables de certaines cytolyses et il est nécessaire d'en tenir un certain compte dans les techniques.

- b) Les prélèvements sont dans 8/10^e des cas allotoniques aux cellules gastriques.

Ils peuvent donc être tenus pour responsables de la majorité des altérations cellulaires.

Nous n'avons appliqué de manière pratique ces notions que dans un trop petit nombre de cas pour en faire état dans ce travail.

TECHNIQUE PERSONNELLE

Voici la technique que nous avons utilisée dans plus de 70 tubages, tous effectués avec le ballon abrasif de PAPANICOLAOU. Dans aucun cas nous n'avons mis en pratique les notions d'allotonie précédemment étudiées.

Avant d'aborder la technique du tubage proprement dit, nous apporterons quelques précisions sur le matériel d'usage peu courant qu'il nécessite et nous donnerons ensuite la liste complète de ce matériel.

A) MATERIEL SPECIAL

Il comprend essentiellement la sonde de PAPANICOLAOU et les colorants.

1^o) La Sonde :

Le modèle qui a été utilisé est la sonde à double courant dite de "MILLER-ABOTT" de 6 m/m de diamètre extérieur. Elle est présentée commercialement soit montée pour l'aspiration intestinale, soit en tubes nus de 3 mètres de longueur beaucoup plus pratiques.

Coupés en 3 tronçons de 1 mètre chaque tube permet la construction de 3 sondes de PAPANICOLAOU que l'on utilise à tour de rôle en raison des fréquentes réparations nécessaires.

Le modèle fabriqué en France à 2 lumières de diamètres inégaux paraît préférable au modèle Américain dont les lumières sont de diamètres égaux.

Les olives sont du type dit de REHFUSS, ovoïdes de 12 m/m de longueur sur 7 m/m de diamètre. Elles sont percées, non de trous, mais de 4 fentes de 10 x 2 m/m, allongées suivant le grand axe de l'olive.

Les olives américaines, plus grosses et de déglutition plus difficile, ont un embout plus long que les olives françaises, facilitant leur amarrage sur la sonde.

Les embouts à double courant sont depuis peu commercialisés en France. (+)

Les tubes de caoutchouc montés sur l'extrémité proximale de l'embout à double courant sont constitués, l'un de caoutchouc fort ne se collabant pas lors d'une forte aspiration, l'autre -qui sert au gonflement du ballon- est un tube type appareil à perfusion. 30 cms de longueur pour le tube de gonflement, 10 cms pour le tube d'aspiration sont suffisants.

Les embouts de ces tubes sont constitués par un embout de seringue de 50 cc pour le gonflement, par un embout de sonde de CAMUS pour l'aspiration.

Les seringues de 50 cc au nombre de 2 doivent être parfaitement étanches.

Le ballonnet est constitué par un condom, les doigtiers en baudruche sont trop petit et trop fragiles.

La voilette : Nous avons reculé devant les voilettes à pois qui constituent un trop grand obstacle à la déglutition. Nous avons abandonné le filet dit "à rideaux" en coton et à maille nouées qui a pourtant l'avantage de son extrême solidité. La voilette à chapeau de femme à mailles hexagonales de 8 mm sur 12 est le matériel utilisé actuellement. L'apprêt qui les recouvre facilite le montage sur le ballon, mais il est nécessaire de le dissoudre par lavage avant l'emploi.

Le fil qui assure l'étanchéité des raccords et le montage du filet est du fil de pêche en soie tressé dit : "Waterproof" de 29/100^e et de 4 Kgs de résistance.

Le procédé le plus rapide pour monter la sonde est le suivant :

Après repérage de la lumière de gonflement -la plus étroite sur les sondes françaises- on pratique à son niveau et à 4 cms de l'extrémité distale de la sonde le premier trou qui permettra de gonfler le ballon. 2 ou 3 autres trous sont percés en amont du premier, tous les 10 ou 15 m/m. Le seul instrument qui permette d'effectuer ce travail avec facilité est la pince à couper les ongles dont les mors évidés et très coupant conviennent parfaitement.

) Tout ce matériel est commercialisé par la Maison EYNARD.

On installe ensuite les différents embouts dont l'étanchéité est assurée par un enroulement de fil disposé en noeud de "relieur". Une boucle en U dont un chef est de 5 cms, l'autre de 20 ou 40 (suivant la longueur de l'enroulement à effectuer) est disposée suivant le grand axe du tube où est introduit l'embout et dépassant l'extrémité du tube d'environ 1 cm. Le chef le plus long est enroulé spire par spire sur le tube recouvrant l'embout, croisant donc à chaque tour les deux branches de l'U et se rapprochant progressivement de son sommet. Lorsqu'on juge suffisant le nombre des spires on fait passer le chef qui les a décrites dans la boucle de l'U. Il ne reste plus qu'à tirer sur la petite boucle de l'U encore libre ce qui amène sous les spires -vers le milieu de l'enroulement- le chef qui les a décrites.

On coupe alors petit et grand chef à 2 ou 3 m/m de l'enroulement.

On installe ainsi l'olive de RENFUSS dans la plus grande lumière (celle d'aspiration) ce qui assure en même temps la fermeture distale de la petite lumière -celle de gonflement-

L'embout à double courant est monté à l'autre extrémité proximale de la sonde.

L'orifice correspondant à la tubulure d'aspiration est adapté sur le tube en caoutchouc fort, l'orifice correspondant à la tubulure de gonflement du ballon est adapté sur le tube type perfusion.

Pour empêcher toute erreur, malgré la différence de longueur des tubes, il est bon de monter sur le tube de gonflement du ballon un embout de seringue de 50 cc disposé à l'envers, le caoutchouc recouvrant d'abord la partie à faible section puis l'autre sur laquelle est enroulée la ligature. L'embout est ainsi totalement recouvert sauf son embase circulaire.

Le tube d'aspiration reçoit un embout de sonde de CAMUS la partie annelée de celle-ci étant introduite dans le tube.

Finalement les 2 seringues sont ainsi disposées :

Celle de gonflement sans embout -qui est installé à demeure dans le tube-

Celle d'aspiration avec son embout normal qui s'adaptera sur l'embout de CAMUS- installé à demeure dans le tube.

Le ballon est alors monté. On sectionne le fond d'un condom pour y pratiquer une ouverture de 2 à 3 mm. à travers laquelle on fait passer l'olive de RENFUSS; c'est le ressaut constitué par la paroi sectionnée de la sonde qui arrête la

progression. Une ligature type noeud de "relieur" est enroulée à environ 10 mm. de l'extrémité distale de la sonde et étendue sur 1 cm. Le fil doit être très peu serré pour éviter de sténoser la sonde, l'étanchéité est assurée par la longueur de l'enroulement.

L'autre extrémité du condom est sectionnée à une distance égale à celle de la première ligature au trou le plus proximal plus quatre à six cms afin de permettre au ballon gonflé de prendre la forme en "culotte de golf". La deuxième ligature est faite 1 à 2 cm. en arrière du trou le plus proximal, peu serrée et étendue sur au moins 1 cm.

On vérifie enfin l'étanchéité de l'ensemble en gonflant le ballon; une pince de KOCHER clampée sur le tube de gonflement, assure l'occlusion du tube.

Pendant ce temps on coupe la voilette en prenant modèle sur le ballon gonflé (qui prend de ce fait un aspect en boudin). C'est un rectangle dont le petit coté est égal à la circonférence du cylindre plus 1 à 2 cm, dont le grand coté est égal à la hauteur du cylindre plus son diamètre. Un fil est passé en coulisseau sur chacun des deux petits cotés du rectangle, ils seront serrés en bourse autour de la sonde au niveau des ligatures assujettissant le ballon. Les deux grands cotés seront réunis par un chef de chacune de ces 2 ligatures faufiletés dans les mailles l'un à la rencontre de l'autre et noués à mi-hauteur du ballon.

Après un nouvel essai d'étanchéité -il arrive assez souvent de déchirer le condom au cours de toutes ces manipulations- la sonde sera conservée, ballon gonflé sinon les parois collabées se colleraient et se déchireraient au gonflement.

) Les Colorants.

Etant donné que nous n'avons utilisé pratiquement qu'un seul type de coloration, le procédé dit 267 à l'EA 65 de PAPANICOLAOU, les descriptions seront limitées aux colorants utilisés dans ce procédé :

a) Hematoxyline de Harris. - Le procédé de préparation qui nous a été communiqué par le Dr. V. NUOVO est le suivant:

Hematoxyline..... 1 gr.
Alcool 95°..... 10 cc.
Alun d'ammonium..... 20 gr.
Eau distillée..... 200 cc.
Oxyde jaune de Mercure... 0 gr.50

Dissoudre l'Hématoxyline dans l'alcool. Dissoudre l'alun dans l'eau distillée en chauffant légèrement, avant l'ébullition ajouter la solution d'hématoxyline et porter à l'ébullition le plus vite possible. Ajouter l'Oxyde jaune de Mercure : la solution doit devenir violet foncé. Retirer de la flamme et refroidir très rapidement en plongeant le ballon dans l'eau courante. Filtrer. Mettre dans un flacon bouché au coton hydrophile et laisser à la lumière 15 jours. Boucher et mettre en flacon opaque à l'abri de la lumière.

C'est en réalité des quantités 5 fois plus grandes de chaque produit qui ont été utilisées pour obtenir un litre de colorant. Celui-ci n'est pas employé pur, il est dilué avant l'emploi par une égale quantité d'eau distillée. Comme PAPANI-COLAOU le conseille c'est toujours la même solution qui est utilisée, on se borne à la compléter de temps en temps par un peu de colorant pur cette fois. L'hématoxyline vieillie colore moins vite -10 à 12 minutes au lieu de 5 à 7 - mais beaucoup plus finement les noyaux. L'hématoxyline en poudre utilisée est celle du commerce. Une hématoxyline de Harris vendue toute préparée par la maison CIBA a donné aussi d'excellents résultats.

OG 6 - Colorant alcoolique dont le mode de préparation est le suivant :

Orange G -solution alcoolique à 0,5%... 400 cc.
Acide Phosphotungstique 0 gr.060

Faire dissoudre 2 gr. d'Orange G dans 18 cc. d'eau distillée en chauffant légèrement, ajouter 30 cc. d'alcool à 5° après avoir laissé refroidir. Filtrer. Ajouter l'Acide phosphotungstique.

Ce colorant est très stable et s'emploie pur. Toutefois à longue on observe une cristallisation du colorant sur les parois du flacon; lorsque celle-ci est trop importante il est bon de renouveler le colorant.

L'Orange G en poudre que nous avons utilisé est le produit commercialisé sous ce nom par la NATIONAL ANILIN & CHEMICAL Co.

Il existe également en France sous le nom d'Orange G pour sa forme en poudre et sous le nom d'Orange G "Pa" pour sa forme toute préparée, commercialisées toutes deux par la maison CIBA.

EA 65.- Moins connu que l'EA 36 ou l'EA 50 il n'en diffère néanmoins que très peu et se recommande d'après PAPANICOLAOU par la plus grande transparence des cytoplasmes et des mucus; par contre les différenciations acido-basophiles sont nettement moins bonnes avec ce colorant.

	EA 36	EA 50
Light Green SF Yellowish		
-Solution à 0,5% dans alcool 95°.	135cc. Sol. 0,25%	135 cc.
Bismarck Brown	30cc. :	30 cc.
Eosin Yellowish	135cc. :	135 cc.
Acide Phosphotungstique	0gr.60 :	0 gr.60
Solution saturée carbonate de Litjium	3 gttes :	3 gttes

Faire dissoudre 1 gr. d'éosine dans 9 cc. d'eau distillée ajouter 190 cc. d'alcool à 95°. Faire dissoudre 0,gr.25 de Brun Bismarck dans 2cc,25 d'eau distillée, ajouter 47,5cc. d'alcool à 95°. Faire dissoudre 0 gr.50 (ou 1 gr. pour l'EA 36) de vert brillant dans 9 cc. d'eau distillée; ajouter 190 cc. d'alcool à 95°. Mélanger sans filtrer 135 cc. de vert brillant, 30 cc. de Brun Bismarck, 135 cc. d'éosine. Ajouter 0 gr.60 d'acide Phosphotungstique et 3 gouttes de Carbonate de Lithium. Filtrer.

Quoique stable ce colorant nécessite toutefois son remplacement plus souvent que l'OG 6.

Nous avons ici encore utilisé les colorants en poudre de la NATIONAL ANILIN & CHEMICAL Co. La maison CIBA a également commercialisé en France un colorant liquide tout préparé dit : Polychrome Stain "Pa" et correspondant à l'EA 50; cette maison fournit de même tous les colorants utilisés dans l'EA 36 et 50.

EA 65 et OG 6 doivent être conservés en flacons bouchés, opaques et les récipients qui les reçoivent devront toujours être parfaitement secs ou avoir été rincés à l'alcool à 95°.

Plutôt que d'utiliser les classiques tubes Borrel, il est plus rapide de colorer les frottis dans des bacs en verre que

l'on fabrique actuellement en France. Les lames sont disposées verticalement dans des paniers également en verre qu'une anse métallique amovible permet de transporter de bac à bac. Vingt six bacs permettent de colorer en une seule fois vingt lames.

Enfin, dernier instrument dont l'expérience nous a montré la valeur, la pipette d'AYRE à prélèvement vaginal. C'est un tube en verre de 14 à 16 cms de long, l'une des extrémités est soigneusement rodée et un peu effilée. L'autre légèrement renflée en bulbe d'adapte à une poire en caoutchouc. Ce dispositif est particulièrement utile pour prélever par aspiration les culots toujours très visqueux que l'aspiration buccale de la pipette Pasteur prélève mal.

B) TECHNIQUE DU TUBAGE dit ABRASIF

1^o) Préparation du malade

S'il n'y a pas de signes radiologiques de sténose, le jeûne nocturne est suffisant. Il est utile de recommander de ne pas fumer pour éviter l'hypersécrétion muqueuse.

S'il existe des signes de sténose radiologique et à fortiori clinique, il est nécessaire de pratiquer pendant plusieurs jours des lavages gastriques au tube de FAUCHER et d'instaurer la diète liquide. Mais dans ces cas et même après préparation convenable les résultats sont souvent médiocres.

Si le malade a absorbé de la bouillie barytée il est nécessaire d'attendre deux à trois jours avant de pratiquer le tubage.

Dans quelques cas il est bon de faire prendre la veille au soir 10 centigrammes de Gardénal ou de faire une demi-heure avant l'examen une injection intramusculaire de Phénergan.

2^o) Le Tubage.

Tandis que le malade se rince la bouche au sérum physiologique, enlève ses appareils dentaires mobiles, s'assied et qu'on dispose devant lui une alène, 20 lames sont gravées à son nom et numérotées de 1 à 20. Elles sont ensuite recouvertes d'un mince film d'albumine, passées à la flamme pour évaporer la glycérine.

Après une dernière vérification de l'étanchéité de la sonde, l'olive et le ballon sont enduits de glycérine. Puis

tenant caché dans la paume de la main le ballon et ne laissant dépasser que l'olive, on fait pratiquer au malade plusieurs grandes inspirations entrecoupées de mouvements de déglutition. La sonde est alors introduite jusque dans l'arrière bouche et quatre ou cinq mouvements de déglutition entrecoupés d'inspirations et d'expirations profondes suffisent en général à lui faire franchir la glotte. Le péristaltisme ensuite, avec souvent un bref arrêt au cardia accompagné de nausées, amène la sonde dans l'estomac.

La présence de liquide gastrique clair et teinté de bile venant facilement à l'aspiration douce indique que l'olive est bien en place. Il est rarement besoin d'une vérification radioscopique.

L'estomac est vidé de tous les liquides qui s'y trouvent, lavé avec 20 à 100 cc de sérum physiologique s'il y a lieu. Ce liquide est jeté. Le prélèvement cytologique peut alors débiter, malade assis le plus confortablement possible, l'opérateur à sa gauche, la table à la droite de ce dernier.

Le ballon dégonflé, la sonde est déglutie au maximum pour permettre à l'olive de se diriger vers le pylore. Puis on gonfle le ballon doucement avec 100 à 200 cc. d'air et on clampe avec la pince de KOCHER le tube de gonflage. L'éclatement du ballon n'est pas à craindre, les pressions mesurées au manomètre à eau se montrent toujours inférieures à 10 cm.

Une aspiration douce est pratiquée pendant quelques instants puis la sonde est retirée assez vivement pour ramener le ballon au cardia ou il se bloque.

Le malade accuse généralement une nausée, une quinte de toux. Nouvelle aspiration.

On dégonfle le ballon et le malade est prié de déglutir à nouveau la sonde au maximum; lorsqu'on suppose que l'olive se trouve dans le pylore on gonfle à nouveau le ballon.

On répète ces manoeuvres entrecoupées d'aspirations jusqu'à l'obtention de 100 à 180 cc. de liquide (4 à 6 tubes à centrifuger de 45 cc.)

Certains estomacs secrètent assez de liquide pour obtenir ce volume en 35 à 75 minutes, dans les autres cas il est nécessaire d'injecter du sérum physiologique pour obtenir en 1 heure de prélèvement sensiblement le même volume. La quantité totale de sérum injecté est donc très variable entre 100 & 500 cc.

Les liquides retirés de l'estomac sont recueillis dans des tubes à centrifuger de 45 cc. disposés dans un cristalliseur rempli de glace.

Les tubes sont remplis aux $\frac{3}{4}$ environ, 2 par 2, et centrifugés dès qu'ils sont pleins, (sans attendre la fin du tubage,) pendant 15 minutes à 1500 tours. Les culots sont aspirés avec la pipette d'AYRE. Un seul suffit en général à couvrir deux lames, parfois trois.

Il arrive assez fréquemment que l'extrême viscosité du liquide ou toute autre cause empêche la formation du culot. Il est à peu près inutile dans ce cas, de prolonger ou d'accélérer la centrifugation, les culots mal formés ne s'améliorent pas.

La goutte de sédiment déposée sur une lame est étalée avec la pipette, tenue parallèlement au plan de la lame, de préférence d'un seul coup, sans revenir en arrière, ce qui est rarement possible. Les frottis sont immédiatement fixés en les plongeant encore humides, et avant tout début de dessiccation, dans un mélange à parties égales d'alcool à 95° et d'éther sulfurique anesthésique.

La fixation dans les paniers de verre évite des manipulations ultérieures mais les lames disposées verticalement laissent glisser dans le fond du bac un certain nombre d'éléments ^{mal} collés qui sont ainsi perdus. Il est souvent préférable pour les liquides pauvres en mucine d'effectuer la fixation des frottis à plat dans les boîtes de LAVERAN. Au bout d'une demi-heure, il est possible de placer les lames verticalement dans les paniers sans risquer de perdre une partie des éléments.

Il est nécessaire de surveiller l'évaporation de l'éther favorisée par la grande surface des boîtes de LAVERAN afin que les frottis ne soient pas exposés à l'air.

Le tubage est repris jusqu'à obtention d'une dizaine de lames, ce qui demande généralement 45 minutes et 100 à 120 cc de liquide.

Après dégonflage du ballon (qu'il vaut mieux effectuer complètement par aspiration à la seringue de gonflement,) la sonde est retirée sans difficultés.

Elle est immédiatement plongée dans une éprouvette de 30 cc remplie aux $\frac{2}{3}$ de sérum physiologique ce qui suffit à recouvrir complètement le ballon. On aspire un peu de sérum pour nettoyer la sonde qui est ensuite complètement vidée du liquide qu'elle contient par l'injection de quelques cc. d'air.

La sonde est clampée à son extrémité proximale puis, tenue verticalement entre les deux mains jointes, on lui imprime un vif mouvement de rotation sur elle-même par des mouvements de va et vient.

Ce sérum chargé d'éléments cellulaires est rapidement centrifugé et le sédiment qu'il fournit permet en général de préparer 5 à 6 frottis et souvent plus.

Le malade est alors invité à se rincer la bouche, le tubage étant terminé.

Le matériel est lavé à l'eau additionnée de "mouillants" synthétiques en le branchant sur une pompe à eau. Il est ensuite séché par aspiration d'alcool à 95° puis d'éther. Il sera ultérieurement vérifié.

3°) La Coloration.

Le procédé qui a été utilisé dans tous les cas est le suivant :

180 cc de liquide sont disposés dans chacun des 26 bacs dans lesquels passera le panier garni de ses 20 lames.

Fixation : Alcool à 95° et éther sulfurique anesthésique en quantités égales.

Jamais moins de 30 minutes
1 heure est préférable.

Les lames peuvent séjourner dans le fixateur pendant 10 à 15 jours au plus.

Dans ce cas il faut rajouter tous les 4 ou 5 jours un peu de fixateur pour compenser l'évaporation de l'éther.

Coloration:

Alcool 80°: Tremper 6 à 12 fois les lames

Alcool 70°: " " " " " "

Alcool 50°: " " " " " "

Eau distillée " " " " " "

Hématoxyline 6 à 8 minutes lorsqu'elle est neuve, 10 à 13' lorsqu'elle est vieille.

Eau distillée: Tremper 6 à 12 fois les lames

H&E à 0,5 %: " 6 fois (pas plus)

Eau courante : placer le bac et son panier garni de lames 6' sous le robinet.

Alcool à 50° : Tremper 6 à 12 fois les lames

Alcool à 70° : " " " " "

Alcool à 80° : " " " " "

Alcool à 95° : " " " " "

O G 6	I minute 30 secondes
Alcool 95°	Tremper 6 à 12 fois les lames
Alcool 95°	" " " " " "
E A 65	1 minute 30 secondes
Alcool 95°	Tremper 6 à 12 fois les lames
Alcool 95°	" " " " " "
Alcool 95°	" " " " " "
Alcool absolu	" " " " " "
Alcool absolu-xylol:	(quantités égales) Tremper 6 à 12
Xylol	Tremper 6 à 12 fois les lames
Xylol	" " " " " "
Xylol	" " " " " "
Xylol	" " " " " "

Les lames sont montées dans la même journée au Baume du Canada sirupeux que l'on conserve, non en tubes, mais en flacons. Il est très important de veiller à ce que la goutte de Baume tombe sur la lame et ne soit pas déposée sur celle-ci afin d'éviter les contaminations du baume qui sont particulièrement graves. Les lames sont ensuite séchées de 36 à 48 heures, puis à nouveau nettoyées au xylol et étiquettées.

Il est important d'utiliser des récipients différents pour les différents alcool^s et de colorer suivant une technique strictement identique à chaque fois afin d'obtenir des teintes comparables. Cette précaution est capitale pour les colorants nucléaires -l'hématoxyline- afin de donner toute leur valeur aux pycnoses nucléaires.

Les préparations sont recouvertes de lamelles de 22 x 32 mm/m représentant une surface de 7,04 cm² qui doit être explorée en totalité.

La lecture est faite à faible grossissement -150 à 170 diamètres- et doit porter sur toute l'étendue de la lamelle. Dès qu'un élément ne peut être reconnu comme normal au faible grossissement, on passe à un grossissement plus fort -650 à 700 diamètres. Si l'élément est suspect il est pointé à l'encre ce qui permettra de le retrouver facilement au moment d'établir le diagnostic lorsque toutes les lames auront été lues.

Lire trois frottis en une heure constitue un maximum et certaines lames réclament à elles seules près de 45 minutes de travail. Quinze lames, soit 105 cm² de frottis, demandent

presque toujours 6 à 7 heures de lecture. La présence de nombreuses cellules cancéreuses abrège évidemment ce délai en permettant d'affirmer le diagnostic dès la première ou la deuxième lame.

Le prélèvement lui-même et la préparation du matériel nécessaire demandent une heure trente à deux heures; la coloration de 20 lames environ 20 minutes, mais les filtrages et le rangement du matériel plus du double. Le montage des préparations n'excède pas 20 à 30 minutes, le nettoyage des lames et leur étiquettage environ 1 heure. Dans l'ensemble il faut compter :

Tubage.....	I heure trente.
Coloration et montage.....	I heure
Nettoyage et étiquettage...	I heure trente
Total :	4 heures.

Comme nous estimons à 5 heures en moyenne le temps passé à la lecture de chaque examen, il faut admettre un total de 9 heures pour un examen cytologique gastrique.

Toutefois nous n'avons pas compté dans cet horaire le nettoyage de matériel, le montage et la réparation des sondes qui demandent plusieurs heures par semaine.

C) LES INCIDENTS

Ils sont peu fréquents et n'ont jamais eu aucun caractère de gravité.

Ia) Les incidents du tubage.

Malgré la grosseur relative de la sonde garnie du ballon et de la voilette, deux de nos malades seulement n'ont pu la déglutir. Ils s'agissait de nerveux, qui ont arraché la sonde alors que la glotte était franchie par l'olive.

Il est par contre moins rare de voir le malade se cyano- ser au passage de la glotte, il vaut mieux dans ces cas passer rapidement la sonde sans attendre les mouvements spontanés de déglutition.

Au cours même du tubage nous avons noté les incidents suivants :

- parfois lorsque le ballon gonflé est ramené au cardia,

le malade présente de violentes nausées accompagnées de quintes de toux. Il suffit de dégonfler le ballon pour que cessent ces phénomènes.

- dans quelques cas il est impossible de retirer du liquide. Il suffit d'enfoncer ou de retirer légèrement la sonde pour faire disparaître une coudure. Dans un cas il nous fut impossible pendant plus d'une heure de retirer la sonde bloquée derrière le cardia. Au cours d'une nausée le malade rendit sa sonde, ballon gonflé. Le fil retenant une extrémité de la voilette avait glissé à mi-hauteur du ballon, le sténosant ainsi que la sonde.
- dans un cas, la voilette mal attachée resta dans l'estomac, le malade ne présentait aucun trouble.
- l'incident le plus fréquent est l'hémorragie. Pratiquement on retire du liquide hémorragique chez tous les malades à un moment donné du tubage. Il est plus exceptionnel que tous les prélèvements soient teintés de sang. Un seul de nos malades atteint d'un cancer assez étendu a saigné assez abondamment puisque nous avons retiré environ 200 cc de sang pur au cours du tubage qui n'a pas, de ce fait, été poursuivi. Le lendemain pourtant, ce malade ne présentait aucun signe clinique d'hémorragie.

2°) Les Incidents de la Coloration.

Il n'en existe pratiquement qu'un seul, mais il est sérieux, la contamination des colorants ou du Baume par les cellules cancéreuses. Leur adhérence aux lames est toujours plus ou moins bonne et un certain nombre se détachent, pendant la fixation, pendant le lavage à l'eau courante et même encore dans le xylol précédant le montage. Il est logique de supposer que ces "floating cells" peuvent dans quelques cas se déposer sur des lames saines et fausser gravement le diagnostic.

C'est surtout au montage que les dangers de contamination sont les plus grands. Si on ne prend pas soin de faire tomber de haut la goutte de Baume sur le frottis, la rétraction du "fil" de Baume peut entraîner des cellules, et a fortiori le contact entre l'agitateur garni de Baume et la préparation. Cette cause de pollution doit être connue, elle est non seulement possible mais fréquente et il est nécessaire d'examiner au microscope toutes les particules macroscopiques que l'on pourrait déceler dans le Baume.

C'est pour éviter des contaminations cellulaires que tous les liquides utilisés pour la coloration seront filtrés dès celle-ci terminée. Il est préférable de conserver les liquides dans des flacons bouchés pour éviter l'évaporation. Les colorants donnent de meilleurs résultats s'ils sont filtrés juste avant leur emploi, surtout l'Hématoxyline qui précipite toujours un peu.

Signalons enfin la parfaite stabilité de l'OG 6. Par contre l'EA 65 voit brusquement ses propriétés tinctoriales s'altérer après 3 ou 4 mois d'usage. L'Hématoxyline s'améliore avec le temps, il est nécessaire de la renforcer tous les 15 ou 20 jours lorsque les noyaux deviennent trop pâles avec un peu de solution fraîche -non diluée-, environ 50 cc.

Les titres des alcools doivent être vérifiés tous les 15 jours, la solution chlorhydrique renouvelée tous les 15 jours.

D) LES CONTR'INDICATIONS DU TUBAGE AU BALLON.

Il est évident qu'un syndrome hémorragique ou qu'une hématoméose récente sont des contr'indications absolues.

Pourtant nous avons pratiqué des tubages au ballon 7 à 10 jours après une hématoméose. Dans un cas il s'agissait d'un gros cancer, dans un autre d'un ulcère de la petite courbure, dans quatre autres cas enfin l'origine de l'hématoméose ne put être établie. Ces tubages n'ont entraîné aucune reprise du saignement et les liquides retirés ne furent pas particulièrement sanglants.

Les auteurs américains insistent sur le danger que représentent les varices oesophagiennes et en principe s'abstiennent de tuber les malades cirrhotiques.

E) LISTE DU MATERIEL NECESSAIRE

- plusieurs sondes de PAPANICOLAOU
- glycérine
- 2 à 3 verres à pied pour recueillir les liquides de stase
et pour faire cracher le malade.
- 1 cristalliseur moyen modèle pour recevoir glace et tubes
à centrifuger.
- 1 cristalliseur grand modèle pour recevoir tout le maté-
riel souillé.
- 1 porte tube à 4 places s'adaptant dans le cristalliseur
moyen.
- 12 tubes à centrifuger de 45 cc.
- Une centrifugeuse capable de recevoir des tubes de 45 cc.
Sa balance.
- Une pince de KOCHER.
- 2 seringues de 50 cc. dont l'une sans embout.
- 1 éprouvette de 40 cc à large pied pour laver le ballon
et le filet.
- 1 flacon de sérum physiologique de 500 cc au moins
- 1 porte tube d'au moins 6 places pour recevoir les tubes
après centrifugation.
- Lames
- 1 diamant
- 6 boîtes de LAVERAN
- 15 à 20 pipettes d'AYRE
- 1 poire en caoutchouc s'adaptant aux pipettes.
- Glace pilée

La fixation et la coloration réclament :

- 27 bacs à coloration munis de leur couvercle
- 2 à 3 paniers en verre munis de leur anse métallique.
- 1 litre d'Hématoxyline
- 400 cc d'OG 6
- 300 cc d'EA 65
- Eau distillée
- Alcool 80° au moins 400 cc.
- Alcool 70° au moins 400 cc.
- Alcool 50° au moins 400 cc.
- Alcool 95° au moins 1200 cc.
- Alcool 100° au moins 400 cc.
- Xylol au moins 1.000 cc.
- Mélange alcool-éther au moins 1.000 cc
- Acide chlorhydrique fumant

.../

- Lamelles 22mm x 32mm
- Etiquettes 13mm x 12 mm
- 1 pince plate sans griffes pour prendre les lames dans les bacs au moment du montage.
- Encre de Chine pour marquage des étiquettes.
- Porte plume
- 2 agitateurs fins pour le Baume et l'albumine de MAYER
- Baume du Canada sirupeux
- Albumine de MAYER : 100 cc.
- Gaze molle, pour nettoyer les lames
- Plateaux en carton pour déposer les lames montées
- Trompe à eau
- Détergeant type mouillant
- Papier filtre
- 12 entonnoirs verre de 9 cm. de diamètre
- Flacons opaques pour colorants : 3 de 200 cc.
2 de 500 cc.
1 de 1000 cc.
- Flacons de 200 cc. pour conserver les liquides autres que les colorants : 23.
- Flacons de 1000 cc. pour conserver l'alcool-éther.
- 2 porte entonnoirs à 3 places
- Alcool 95°)
- Alcool 100°)
- Xylol) quantité suffisante pour réserve.
- Ether)

LE FROTTIS GASTRIQUE.

La modeste expérience que nous avons de la Cytologie Gastrique ne nous permet pas d'en donner une description valable. Aussi, tant à propos de la cytologie normale que de la cytologie cancéreuse, nous nous bornerons à rapporter les descriptions de PAPANICOLAOU et de ses collaborateurs et, particulièrement celles que donne PANICO ainsi que celles des auteurs de la monographie "Cytologic diagnosis of Cancer".

A.) LE FROTTIS NORMAL

Il est constitué essentiellement de cellules exo-gastriques buccales, oesophagiennes, naso-pharyngo-bronchiques, sanguines et de quelques cellules gastriques.

1°) Les Cellules Exo-gastriques :

Elles proviennent de la déglutition d'éléments cellulaires dérivant des épithéliums malpighiens buccaux et oesophagiens, et des épithéliums cylindriques naso-bronchiques.

a) Les cellules malpighiennes sont représentées par 3 types, les superficielles, les parabasales et les basales qui proviennent respectivement des couches superficielles, moyennes et profondes de l'épithélium malpighien oesophagobuccal.

Les cellules superficielles, les "squamous cells" des auteurs anglo-saxons, sont identiques aux cellules vaginales. Il s'agit de grandes cellules plates, hexagonales lorsqu'elles sont typiques et plus souvent losangiques, trapézoïdales ou ovalaires.

Leur cytoplasme est basophile ou acidophile et il est souvent ponctué de petites granulations tendant à se disposer en cercles concentriques. La structure est homogène, lisse et relativement opaque, comme le limbe de l'ongle. Les limites sont bien définies.

Le noyau médian, arrondi et bien limité, possède une chromatine assez fine. Dans les cellules dites "éosinophiles à petit noyau" il devient plus dense et plus sombre, pouvant aller jusqu'à la pycnose vraie.

Les superficielles se rencontrent soit isolées, soit en grands placards généralement acidophiles. Elles sont généralement bien conservées.

Les cellules parabasales, ovalaires, basophiles, beaucoup plus petites que les précédentes, sont déjà beaucoup plus rares.

Leur noyau est de taille sensiblement identique à celui des superficielles. La chromatine y est légèrement moins fine. On les rencontre isolées ou par petits placards de 6 à 8 cellules.

b) Les Cellules Basales :

Arrondies et basophiles, elles ont un cytoplasme encore plus réduit que celui des parabasales et égal au plus à la largeur du noyau autour duquel il ne forme plus qu'une simple jante.

Le noyau bien colorable à chromatine abondante est légèrement granuleux, avec même quelques condensations chromatiniennes.

Ces cellules sont exceptionnelles sur les frottis gastriques.

c) Les cellules du sang sont au moins aussi nombreuses que celles dérivant des épithéliums malpighiens. Elles proviennent soit des éléments lymphoïdes péripharyngiens, soit de la paroi gastrique par diapédèse ou par effraction vasculaire, soit du tractus respiratoire.

Ces éléments sont représentés essentiellement par des polynucléaires plus ou moins bien conservés et facilement reconnaissables, même au faible grossissement; des lymphocytes et des monocytes qu'il est assez difficile de différencier entre eux.

Beaucoup plus rares sont les plasmocytes, à cytoplasme acidophile, à noyau périphérique et rayonné.

Enfin, les hématies sont fréquentes, souvent très altérées. A leur contact, il est fréquent d'observer des précipitations d'OG 6.

Il ne semble pas que le nombre ou la présence d'éléments leucocytaires puisse permettre aucune déduction sur l'état de la paroi gastrique.

d) Les éléments du Tractus respiratoire :

Ils sont généralement peu abondant sauf chez les malades qui ont présenté de violentes quintes de toux. Ils sont représentés par les cellules glandulaire^s de l'épithélium naso-bronchique et par le^shistiocytes.

- Cellules naso-bronchiques :

PANICO en décrit 2 variétés : cellules muqueuses et cellules ciliées.

1) Cellules muqueuses :

De forme cylindrique ou cuboïdale, parfois caliciformes, telle est la description qu'en donne PANICO.

Bien que nous les ayons étudiées sur des prélèvements rhino-pharyngés, il nous semble difficile de les reconnaître et de les différencier des cellules gastriques atypiques. Leur cytoplasme basophile et vacuolaire n'est pas caractéristique, non plus que leur noyau où la chromatine est condensée en de multiples petits granules.

Elles revêtent très aisément des aspects pseudo-cancéreux et PAPANICOLAOU et ses collaborateurs leur doivent 2 réponses faussement positives.

Il ne semble pas que ces cellules desquament très abondamment et lorsqu'elles le font c'est toujours isolément, à notre avis. Aussi, en règle générale, nous n'accordons aucune valeur à des cellules isolées, même très suspectes. PAPANICOLAOU signale que leur desquamation en placards est possible.

2) Les cellules ciliées :

Elles sont particulièrement faciles à reconnaître lorsque les cils sont bien conservés. Lorsque ceux-ci sont mal visibles, la présence au milieu du pôle cellulaire où ils s'inséreraient d'une cuticule moins transparente et striée transversalement de traits brillants, est assez caractéristique.

Les noyaux sont granuleux, parfois multiples, et presque toujours situés au pôle basal de la cellule.

- Les Histiocytes :

Sont souvent de diagnostic très délicat. PANICO en distingue deux variétés : les histiocytes provenant de la leucodièrese gastrique, les histiocytes pulmonaires ou bronchiques. Pratiquement, on rencontre sur les lames des histiocytes sans inclusion et des histiocytes à inclusions sans pouvoir préciser leur origine.

1) Le histiocytes à inclusions, les cellules à poussières.

Comme tous les histiocytes leur forme est essentiellement variable ainsi que leur taille. Le cytoplasme est presque toujours flou, très mal limité, spumeux mais il présente de petites inclusions de carbone, opaques, anguleuses, presque toujours multiples, parfois très nombreuses qui se détachent très nettement sur le cytoplasme orangé, gris-verdâtre ou gris-bleuâtre.

2) Les histiocytes sans inclusion (dérivant soit de la leucodièrese gastrique, soit de l'arbre respiratoire). Il sont beaucoup moins facile à reconnaître que les précédents.

Le cytoplasme est classiquement flou et mal limité - toutefois pour les histiocytes colorés en orange, ces caractères manquent totalement, la cellule est parfaitement limitée, arrondie et d'aspect relativement lisse.

L'aspect spumeux du protoplasma est la deuxième caractéristique de ces cellules qui ressemblent à la mousse de la bière. Ce caractère est assez constant, sauf pour les histiocytes oranges.

Enfin, les affinités tinctoriales sont variables, du gris bleuâtre ou verdâtre, à l'orange plus ou moins brun.

Il ne faut pas oublier que des éléments aussi translucides que des cellules isolées prennent en réalité la couleur du fond sur lequel elles reposent.

Le noyau classiquement périphérique et réniforme, peut affecter toutes les formes et les position et il peut être multiple. Sa structure est habituellement irrégulière, la chromatine apparaissant plus dense à la périphérie.

A l'examen à fort grossissement, on est souvent frappé par le flou des limites du noyau que malgré une bonne mise au point, on hésite à fixer. C'est un signe accessoire, mais parfois utile pour reconnaître ces cellules protégées que sont les histiocytes.

e) Les derniers éléments exo-gastriques sont constitués par des germes du type cocci, des filaments mycéliens, des sarcines (qui ne sont pas tellement exceptionnelles dans des estomacs sans sténose), des débris végétaux (dont la présence est d'ailleurs l'indice d'une mauvaise préparation). Nous n'avons jamais rencontré les GIARDIA signalés par PANICO.

2°) Les Cellules Gastriques :

Ces cellules sont toujours rares sur les frottis et bien des lames en sont dépourvues. Dans les rares cas où elles apparaissent en grand nombre, il semble s'agir de gastrites aiguës.

PANICO décrit trois types de cellules gastriques : les cellules de l'épithélium de surface dont les placards bien conservés sont rares; les cellules muqueuses ou en châton de bague, rares, elles aussi, en raison de la fragilité de la grosse vacuole de mucine; les noyaux nus, toujours très abondants et relevant de l'action des sucs gastriques.

Etant donné que les noyaux nus ne sont aucunement caractéristiques de quelque type de cellule que ce soit, il paraît préférable de réduire cette description à deux types seulement : - les cellules normales et
- les cellules en bague à châton.

a) Les Cellules Gastriques Normales :

Elles peuvent affecter des formes variables. Isolées, elles sont généralement rectangulaires, plus ou moins allongées, parfois triangulaires ou franchement ovoïdes suivant la tonicité des milieux.

Le cytoplasme assez bien limité est moins dense que

celui des superficielles, il est souvent ponctué de petites vacuoles. La basophilie n'est pas plus fréquente que l'acidophilie.

Lorsque ces cellules apparaissent en placards assez grands c'est par leur sommet qu'on aperçoit les cellules. Elles dessinent alors un pavage régulier d'éléments hexagonaux, centrés par leur noyau. Lorsque ces placards ne sont constitués que par quelques cellules, celles-ci se disposent de champ, en palissade. Il est fréquent de noter un certain élargissement du pôle intra-gastrique limité par une mince bande de protoplasma plus dense et plus réfringent.

Le noyau relativement gros est situé au niveau du tiers moyen ou basal de la cellule. Il revêt des formes assez variables, arrondi ou en ovale allongé, quelquefois vaguement triangulaire. Sa structure est normalement finement granuleuse avec une ou deux petites condensations chromatiniennes. La coloration varie du violet clair au violet sombre.

b) Les cellules en bague à chaton :

A plusieurs reprises, dans des estomacs considérés comme gastriques nous avons trouvé des cellules présentant une grande vacuole, unique, légèrement excentrique, repoussant à sa périphérie le cytoplasme et le noyau sombre et dense. C'est l'aspect bien connu des cellules en bague à chaton.

Ces éléments paraissent provenir de la desquamation d'une muqueuse gastrique en état de métaplasie intestinale.

Ces métaplasies sont fréquentes dans les gastrites, mais aussi dans les estomacs cancéreux et ulcéreux et la présence de cellules en bague à chaton sur un frottis n'est nullement rassurante. D'autre part, il est probable que les cellules caliciformes ^{bronchiques} doivent, le cas échéant, revêtir, elles aussi, des aspects en bague à chaton.

c) Les Noyaux Nus et le Mucus :

Celui-ci, qui existe en quantité variable sur les frottis est toujours très gênant par son opacité. Lorsqu'il est condensé en longs filaments c'est souvent sur leurs bords qu'il faut rechercher les cellules gastriques.

Les noyaux nus constituent le fond du tableau du frottis gastrique. Toujours nombreux et gênants, ils proviennent de toutes les cellules, exo- et endo-gastriques. Il nous paraît parfaitement illusoire de vouloir les reconnaître.

PAPANICOLAOU dit n'avoir posé de diagnostic sur des noyaux nus que d'une manière très exceptionnelle.

LE FROTTIS CANCEREUX

C'est au milieu de tous les éléments exogastriques qu'il faut rechercher et trouver les cellules cancéreuses isolées ou en placards et presque toujours rares.

Les altérations relevant d'un processus malin sont de deux ordres, celles portant sur le noyau, celles portant sur le cytoplasme.

1^o) Les altérations cancéreuses :

Les altérations portent à la fois sur le noyau et sur le cytoplasme.

a) Les altérations nucléaires :

Elles sont les plus importantes et portent sur la taille, la forme et la structure du noyau.

Les noyaux sont de taille inégale, généralement supérieure à la moyenne, mais comme le cytoplasme qui les entoure est de volume sensiblement normal, le rapport nucléo-plasmatique est nettement abaissé.

Les formes nucléaires sont, dans l'ensemble, peu modifiées. Il est relativement rare de trouver des aspects bourgeonnant ou anguleux.

La structure de la chromatine est très modifiée. Granuleuse, condensée en deux ou trois blocs irréguliers et sombres, elle dessine d'un trait épais et irrégulier les limites du noyau dont le centre reste clair, parfois comparable à une peinture à la détrempe. Les auteurs du "Cytologie Diagnostic of Cancer", admettent que ces noyaux à centre clair relèvent de dégénération cellulaires.

b) Les altérations des cytoplasmes :

Ceux-ci sont souvent de grande taille (mais cette augmentation est presque toujours inférieure à celles des noyaux) et déformés par la présence de vacuoles. La macrophagie n'est pas rare et porte plus souvent sur des leucocytes que sur des cellules cancéreuses. Ces cytoplasmes sont indifféremment baso- ou acidophiles.

Un gros noyau de forme un peu irrégulière, dont la chromatine est condensée en granules et souligne la membrane nucléaire, un cytoplasme réduit à une mince jante, voilà simplement décrite une cellule cancéreuse.

Mais dans bien des cas, il s'en faut de beaucoup que les atypies cytoplasmiques et nucléaires permettent d'acquiescer immédiatement la certitude du cancer. Il faut toujours essayer d'assurer un diagnostic de malignité par la présence de placards cancéreux. Ceux-ci apportent un élément de comparaison extrêmement utile entre les différents noyaux et objective leurs variations de taille, toujours plus nettes que celles de forme. Ils permettent, de plus, de mettre en évidence l'empilement des noyaux les uns sur les autres ou leur recouvrement partiel, signes de très grande importance.

C'est toujours sur de tels placards que nous avons fondé nos diagnostics. Mais il est certain que des cytologistes particulièrement entraînés ont porté des diagnostics de malignité sur des cellules isolées - et plus souvent d'ailleurs sur des frottis génitaux que sur des frottis gastriques.

Un de nos frottis ne présentant que des cellules isolées, particulièrement suspectes d'ailleurs, a été interprété comme cancer au laboratoire de PAPANICOLAOU à New-York. L'examen de la pièce de gastrectomie n'a pas révélé de cancer. Nous

LES CLASSES

C'est l'un des mérites de PAPANICOLAOU d'avoir apporté dans l'interprétation cytologique la notion de degré croissant de certitude, depuis la cellule franchement normale jusqu'à la cellule indiscutablement cancéreuse.

Les anciens auteurs distinguent simplement cellules cancéreuses et cellules non cancéreuses, or, il existe indiscutablement un certain nombre de cellules qui ne rentrent pas dans cette classification; leurs altérations sont insuffisantes pour emporter la conviction du cancer, mais elles les séparent nettement des cellules saines. Ce groupe constitue la classe III.

D'autre part, les cellules certainement non cancéreuses affectent parfois quelques atypies, tout en restant dans le cadre de la bénignité. C'est pour exprimer cette notion qu'ont été créées la classe I, caractérisant les cellules franchement normales, et les classes II, caractérisant les cellules présentant quelques atypies bénignes.

Il est enfin apparu nécessaire de distinguer parmi les frottis cancéreux, ceux possédant de nombreuses cellules caractéristiques - classe V - et ceux n'en possédant que quelques-unes - la classe IV.

Il est certain que dans une telle classification, tout se passe comme si l'on n'admettait qu'une simple différence de degré entre le normal, l'inflammatoire, le cancéreux. C'est ce qu'indirectement exprime PANICO en écrivant : "bien qu'il n'y ait pas de rapports établis entre les atypies bénignes et malignes, certaines de ces dernières évoquent néanmoins les premiers critères de malignité."

Notre position à ce sujet est la suivante : ou bien il s'agit d'un cancer que, par manque d'expérience ou d'éléments cellulaires, on n'a pas diagnostiqué; ou bien il s'agit d'une lésion bénigne, purement inflammatoire. (Les altérations de la muqueuse gastrique qui borde un ulcère en voie de cicatrisation sont parfois, même pour l'anatomo-pathologiste, source de difficultés et probablement d'erreurs).

Considérer un frottis comme classe III c'est faire un aveu d'impuissance qui implique, si possible, un deuxième examen.

Les différents auteurs qui se sont intéressés à la cytologie gastrique ont proposé plusieurs classifications.

BRYANT et ses collaborateurs, FONTAINE et ses collaborateurs, SICARD et ses collaborateurs admettent 3 conclusions :

- présence de cellules cancéreuses
- absence de cellules cancéreuses
- et une conclusion intermédiaire : "douteux" pour les auteurs français, "no definite conclusion"

malin.

- Classe V : Réponse positive. Il a été trouvé un grand nombre de cellules relevant d'un processus malin.

Certains examens techniquement insuffisants, soit par l'absence de cellules gastriques en bon état, soit par la mauvaise qualité de la coloration, sont classés comme examens insuffisants et sont dénués de toute valeur.

L'absence de cellules gastriques n'autorise pas à classer un examen comme insuffisant, la desquamation cellulaire est loin d'être constante dans les estomacs sains, elle n'apparaît avec une certaine intensité que dans les estomacs pathologiques.

Ces classes ont l'avantage de systématiser l'interprétation des frottis, mais elles ont l'inconvénient d'être arbitraires et un peu artificielles.

Aussi, nous avons pris l'habitude de les compléter dans nos compte-rendus par une description cytologique afin de préciser les raisons de notre interprétation en telle ou telle classe et afin de préciser si un nouvel examen est désirable ou non.

Par ailleurs, nous signalons toujours la surface de frottis explorée, l'abondance ou la rareté des cellules gastriques. Ce qui permet au clinicien de donner toute sa valeur à une réponse négative lorsqu'elle s'accompagne d'une intense desquamation.

- VI -

LES PROBLEMES DE L'ENONCE DES RESULTATS

STATISTIQUES PUBLIEES - RESULTATS PERSONNELS.

Les résultats des examens cytologiques sont difficiles à exprimer clairement par les statistiques car les réponses sont nombreuses. Un prélèvement chez un cancéreux peut être en effet interprété comme positif, douteux, négatif ou insuffisant et il n'est pas toujours possible de se fier entièrement aux conclusions opératoires ou anatomiques pour assurer l'existence et surtout l'absence d'un cancer.

Ce sont ces diverses interprétations qui vont maintenant nous retenir, avant d'aborder les statistiques publiées et nos résultats personnels.

I./ ENONCE DES RESULTATS

Ceux-ci pouvant être justes, faux, douteux, à la fois chez les malades présentant un cancer et chez les malades n'en présentant pas.

a) Les réponses justes :

Elles peuvent être de deux types, les réponses justes positives - interpréter comme classe IV ou V un cancer - et les réponses justes négatives - interpréter comme classes I ou II une lésion bénigne.

La précision de l'évaluation du taux de ces réponses justes paraît différente pour les réponses justes positives et pour les réponses justes négatives.

- Les réponses justes positives :

Leur taux n'a évidemment de valeur absolue que si l'existence du cancer est vérifiée. La plus haute expression de cette vérification est l'examen anatomo-pathologique d'un prélèvement chirurgical ou nécropsique - exceptionnellement biopsique dans le cas particulier de l'estomac.

Mais bien des diagnostics ne sont affirmés que par la palpation chirurgicale de l'estomac, à ventre ouvert, dont on connaît les rares mais indiscutables erreurs, ou par la palpation médicale, à ventre fermé, de métastases hépatiques. Celles-ci donnent d'ailleurs une certitude beaucoup plus grande.

Lorsque le diagnostic de cancer n'est appuyé que sur des constatations radiologiques ou gastroscopiques, les

chances d'erreur sont alors beaucoup plus grandes.

Dans l'ensemble, hormis la dernière cause d'erreur (que tous les auteurs ne signalent pas avoir formellement écartée), les réponses justes positives ont une valeur presque absolue.

- Les réponses justes négatives :

Il n'en va pas de même pour ce type de réponses. L'anatomo-pathologiste n'a que rarement l'occasion de vérifier l'absence d'un cancer : on n'enlève pas un estomac sain. Le ferait-on d'ailleurs, que quelques coupes n'élimineraient pas la possibilité d'un cancer gastrique situé en dehors des zones de section. La radio, la gastroscopie, même aidée de la biopsie, laissent échapper forcément un certain nombre de cancers.

Seule, la clinique suivant le malade pendant au moins trois ans pourrait préciser le taux absolu de diagnostics justes négatifs.

Pratiquement, à l'heure actuelle, pour la majorité des cas publiés, il est impossible d'obtenir une telle certitude et il faut admettre un certain nombre d'erreurs, relativement important, dans l'évaluation du taux des diagnostics justes négatifs.

b) Les réponses fausses :

Elles peuvent revêtir deux aspects différents, les réponses faussement positives et les réponses faussement négatives.

- Les réponses faussement négatives :

Comme les réponses justes, elles n'échappent que très rarement. En effet, pour des raisons psychologiques, une suspicion radiologique ou gastroscopique est presque toujours confirmée, soit par l'observation clinique prolongée, soit par l'intervention, si bien que tous les cas de cancers pour lesquels la cytologie a été défailante sont finalement connus et identifiés.

- Les réponses faussement positives :

Comme pour les réponses justes négatives l'examen anatomo-pathologique laisse toujours un doute si l'estomac n'a pas été entièrement débité. Cette erreur n'est pas théorique et de nombreux auteurs qui se sont intéressés à la cytologie vaginale l'ont signalée. Le cas n'est pas tellement rare où la cytologie ayant répondu cancer malpighien, l'examen anatomo-pathologique ne confirme ce résultat que lorsque le col utérin a été complètement débité.

PAPANICOLAOU (communication orale du Pr. CONTE) n'a réussi à mettre en évidence un petit cancer pulmonaire qui avait donné lieu à une réponse cytologique positive

qu'après une dissection minutieuse de la totalité de l'arbre bronchique.

Même dans le cas où l'examen anatomo-pathologique n'aurait pu conclure au cancer, il n'est pas évident que celui-ci fasse ultérieurement sa preuve par des métastases. En effet, si on admet que la précocité du diagnostic cytologique a permis l'exérèse d'un très petit cancer, il n'y a pas de raison pour que celui-ci se manifeste un jour.

Enfin, l'absence de vérifications anatomiques (qui sont la règle puisqu'on n'enlève pas un organe sur la seule foi de la cytologie) un délai d'au moins trois ans est le seul moyen de vérifier ou non l'existence d'un cancer.

Aussi est-il difficile de préciser exactement le nombre des examens faussement positifs.

Il n'est pas dans notre dessein de nier les conséquences graves d'une réponse faussement positive ni de minimiser leur taux très élevé dans certaines statistiques (10 %). Mais nous voudrions faire remarquer que ce type d'erreur est commun à beaucoup de disciplines médicales, la clinique comme la radiologie et la gastroscopie (nous en rapporterons un cas plus loin). Il est connu que des interventions, et même des gastrectomies, ont été pratiquées sur de faux diagnostics radiologiques de cancers.

GUY ALBOT a montré que dans ces cas il s'agissait souvent d'une plage de gastrite localisée, enraidissant le profil gastrique.

D'autre part, les syphiligraphes connaissent les sérologies faussement positives, les hématologistes les faux diagnostics de leucose par interprétation abusive des morphologies cellulaires.

En tous cas, à notre avis, une réponse positive (juste ou fausse) isolée (c'est-à-dire sans confirmation radiologique ou gastroscopique) ne doit jamais conduire à une gastrectomie systématique, d'autant que celle-ci, si l'on veut être logique devrait être totale. Et l'on connaît la mortalité et les séquelles graves de cette intervention.

c) Les réponses douteuses :

L'erreur peut, encore ici, affecter deux types différents : considérer un estomac sain comme douteux, considérer un estomac cancéreux comme douteux.

Plus pour cette rubrique que pour les autres cette distinction est importante car la diminution des réponses douteuses est le témoin le plus sûr des progrès de la technique et de l'expérience du cytologiste.

Il est certain qu'une erreur en plus - considérer comme douteux un malade non cancéreux - est plus grave qu'une erreur en moins - considérer comme douteux un malade cancéreux.

Mais, pratiquement, et nous tenons à souligner ce fait, une réponse douteuse est sans valeur et ne doit peser d'aucune manière dans la décision thérapeutique.

Cependant, si elle^{se} rapporte à un malade pour lequel des arguments sérieux, cliniques, radiologiques ou gastroscopiques, permettent de soupçonner un cancer, elle encourage à répéter l'examen cytologique, au contraire d'une réponse franchement négative.

Nous avons adopté la solution de présenter à part les diagnostics douteux en signalant ceux correspondant à une erreur en plus et ceux correspondant à une erreur en moins.

d) Les examens insuffisants :

Leur nombre étant très variable suivant les auteurs, nous les avons toujours éliminés du calcul des pourcentages. En effet, une technique n'a jamais été jugée sur des examens insuffisants, pas plus un dosage de Réserve Alcaline sur du sang exposé à l'air qu'un examen radiologique pratiqué avec de mauvais films.

Si un examen est insuffisant, il doit être recommencé.

e) Le problème du nombre des lames :

La plupart des auteurs préparent de 3 à 5 lames soit avec des lamelles de 22x32 mm. une surface de 21 à 35 cm².

PAPANICOLAOU signale avoir exceptionnellement étalé une dizaine de lames.

Personnellement, nous croyons nécessaire de multiplier les lames.

En effet, si une classe V est en général reconnue dès la première lame, on ne peut jamais affirmer que 4 frottis de classe III ne seront pas controuvés par un cinquième frottis riche en cellules cancéreuses caractéristiques. C'est pourquoi, nous examinons, pour chaque malade chez lequel le diagnostic de cancer n'est pas évident, au moins 105 cm² de frottis (15 lames) ce qui assure à une réponse négative ou douteuse une assez grande valeur, surtout lorsque la desquamation cellulaire est massive et permet de juger sur une grande quantité d'éléments.

La seule limite à la multiplication des frottis est l'augmentation du temps réclamé par leur lecture. Mais, nous le répétons, en cytologie gastrique, il est nécessaire, en raison de la maigre desquamation cellulaire d'examiner plus de 100 cm² de frottis. Plus la surface explorée est grande, plus grandes sont les chances de dépister un cancer, plus grande est la valeur d'une réponse négative et plus petite est la proportion de résultats douteux.

II./ LES STATISTIQUES.

Il nous a paru utile de présenter d'une manière synoptique les statistiques publiées depuis 1946.

Nous aurions voulu pouvoir préciser des pourcentages globaux, malheureusement, il est vraisemblable qu'un certain nombre de résultats publiés par les mêmes auteurs à des dates différentes concernent les mêmes mala des auxquels un certain nombre de nouveaux cas sont venus s'ajouter.

Il est d'autre part difficile de présenter d'une manière identique des résultats que les différents auteurs expriment selon des normes personnelles.

Nous avons pu toutefois dans le tableau VI, séparer les lésions non cancéreuses de l'estomac des lésions cancéreuses gastriques.

Chaque fois que cela a été possible, le nombre absolu de cas, le nombre absolu de diagnostics corrects positifs et négatifs avec leur pourcentage ont été notés, de même que le nombre absolu des erreurs en plus ou en moins et leur pourcentage et le nombre absolu de douteux positifs et négatifs et leur pourcentage.

Le nombre absolu et le pourcentage des examens insuffisants a été indiqué lorsque les auteurs les ont fournis. Ce dernier chiffre a été exclu du calcul des pourcentages.

Toutes les cases sont loin d'être remplies. Nous n'avons pas cherché, lorsque les précisions étaient insuffisantes, à obtenir par le calcul et par recoupements, les chiffres manquants, nous nous sommes bornés à calculer soit le pourcentage, soit les taux absolus lorsque cela était possible.

VI

L'analyse du tableau permet les constatations suivantes :

- 2) La proportion de réponses positives dans les cas de cancer varie entre 100 % dans les très courtes séries et 30,7 %, ce qui est considérable, un peu moins si l'on élimine les séries inférieures à 20 cancers. Dans ce cas, le pourcentage varie entre 86 et 30,7 %.

Dans l'ensemble, ce sont les techniques les plus simples dont les résultats sont les moins bons, les techniques au ballon ou à la papaine les meilleures qui oscillent tous autour de 75 % (PAPANICOLAOU et ROSENTHAL).

- 2) Les diagnostics justes négatifs sont beaucoup plus homogènes et compris entre 100 % et 66,6 %. Le taux de faux positifs - les erreurs graves - est compris entre 0 et 10,2 %. Il est remarquablement bas et inférieur à 1 % dans les statistiques de PAPANICOLAOU et de ROSENTHAL.

Lésions bénignes ou pas de lésions gastriques

	Auteurs	Cas	Négatifs justes		Faux Positifs		Douteux		Insuf.
			Nb abs.	%	Nb abs.	%	Nb abs.	%	Nb abs.
1946	PAPANICOLAOU	7	7	100					
1947	PAPANICOLAOU-COOPER	110	101	91,8	0	0	9	8,2	
1948	GRAHAM-ULFELDER-GREEN	26	25	96,1	1	3,8			
"	FREMONT SMITH	128			3	2,3			
1949	ANDERSEN-MAC DONALD- OLSEN								
"	HUNTER								
"	RICHARDSON								
"	BRYANT-CRAIG-POLLARD	305			18	5			
"	RICHARDSON								
"	POLLARD-BRYANT- BLACK HALL	192	163	66,6 à 83,3	10	4	19	10	
"	HUNTER-RICHARDSON- BISHOP-QUEEN	51			2	3,9			
"	CAMPBELL - GRIMM								
"	GLADSTONE								
1950	BOTSFORD - TUCKER	101			4	3,9			
"	SWARTZ-RAGUINS- BERNSTEIN	99	61	90	6	10			32 ⁺ 2 ⁺
"	PANICO-PAPANICOLAOU COOPER	16	16	100					
1951	ROSENTHAL - TRAUT	65							
"	UMBRIGLIA-STEIN- LOPUSNIACK	49	44	89,7	5	10,2			
"	SEYBOLT-PAPANICOLAOU- COOPER	707	617	87,3	18	2,5	72	10,2	
"	ROSENTHAL	360?			3	0,83?			
"	PAPANICOLAOU-SEYBOLT (ballon)	122			1	0,81			
"	WIENBENGA-JANSSEN- VERDAUNT	3							
1952	LEMON					1,8			
"	DEBRAY-LAUMONNIER				0	0			
"	FONTAINE-KLEIN- BOLLACK	15	7	46,6	6	40	2	13	
1953	COOPER-PAPANICOLAOU	187	177	94,6	1	0,56	9	5	

Cancer Gastrique

Cas	Positifs justes		Faux Négatifs		Douteux		Insuffisants	
	Nb Abs.	%	Nb Abs.	%	Nb Abs.	%	Nb Abs.	%
2	2	100			7	26		
27	10	37	10	37				
(24	(15	(62,5	9	37,5				
(14	(12	(85						
65	35	64						
35	26	74,2						
		80 env.						
		48,1 à 66,7						
42	18	48,6	13	35,1	6	16,1	5+	11,7 ⁺
		48						
61	22	36	34	60	5	4		
37	13	48,1						
7	5	71,4						
23	17	73,9						
67	15	44	19	56	1	5,8	33 ⁺	49 ⁺
17	14	82,3	2	11,7				
5	5	100						
23	20	86	3	13				
(168	(55	(32,8	(82	(48,8	(31	(18,4		
(25	(15	(60	(8	(32	(2	(8		
42	30	75	7	17,5	3	7,5	2 ⁺	4,9 ⁺
32	24	75	2	6,2	6	18,7		
2								
42	12	30,77	21	53,8	6	15,3	3 ⁺	7,1 ⁺
22	11	50	8	36,3	3	13,6		
8	5	62,5	2	25	1	12,5		
51	38	74,5	6	11,7	7	13,7		

Calcul des pourcentages.

III./ RESULTATS PERSONNELS

Les résultats dont nous pouvons faire état portent sur 61 examens parmi les 157 que nous avons effectués de Mars 1952 à Octobre 1953. Ils concernent 58 malades pour lesquels furent pratiqués environ 600 frottis.

Résultats bruts :

Parmi ces 58 malades, 32 étaient porteurs d'un cancer de l'estomac authentifié par l'intervention et l'examen histologique (23 cas) ou par la présence de nodules métastatiques hépatiques (2 cas). 7 autres cas, non opérés et sans métastases apparentes, présentaient néanmoins des images radiologiques ou gastroscopiques indiscutablement cancéreuses. Dans 2 cas enfin, l'examen radiologique suggérerait la possibilité d'une transformation cancéreuse d'un ulcère pour l'un, un cancer primitif à un stade précoce pour l'autre. Ces deux cas, interprétés comme cancer (classe IV) ont malheureusement été perdus de vue et nous n'en tiendrons pas compte.

Ces 30 cancers n'ont pas permis d'obtenir de frottis satisfaisants dans 5 cas (soit 16,6 %). Les 25 autres ont été correctement interprétés - classe IV ou V - dans 18 cas (soit 72 % de réponses exactes positives). Quatre ont été considérés comme suspects - classe III - (soit 16 %). Enfin, 3 cancers ont été méconnus et classés I ou II (soit 12 %).

Chez 26 malades non atteints d'un cancer gastrique, le diagnostic a été confirmé 9 fois par l'intervention et l'examen anatomo-pathologique (2 ulcères bulbaires, 1 ulcère gastrique, 2 gastrites, 1 polype gastrique, 3 affections gastriques ou extra-gastriques diverses).

Les 17 autres cas non opérés concernaient des ulcères du bulbe, du pylore, de l'estomac, des gastrites, des hématomés apparemment cryptogénétiques et des estomacs normaux.

Dans cette série, 3 examens ont été considérés comme insuffisants, soit 11,5 % des cas. Les 23 autres malades ont été considérés cytologiquement comme non cancéreux - classe I ou II - dans 19 cas, soit 82,6 % de réponses exactes négatives. Trois malades ont été considérés comme cancéreux - classe IV, soit 13 %. Un malade a été considéré comme suspect classe III, soit 4,3 %.

Discussion de ces résultats :

Les réponses exactes positives : 18 cancers, 72 %

Dans 18 cas, la gastrectomie n'a été possible que 4 fois. En effet, nous avons surtout cherché à asseoir sur des bases solides le diagnostic cytologique du cancer de l'estomac et nous avons réservé de préférence cet examen aux malades dont le diagnostic était à peu près assuré par les méthodes

habituelles.

A plusieurs reprises pourtant la cytologie a permis un diagnostic relativement précoce de l'atteinte gastrique.

Le premier cas (obs. N° 6012) concerne un^e malade de 36 ans hospitalisé le 3/4/53 pour un syndrome caractérisé par des douleurs abdominales diffuses survenant après les repas et soulagées partiellement par des vomissements, évoluant depuis 1 mois, avec amaigrissement de 3 Kg.

A l'examen, c'était un malade maigre, pâle, subictérique; on percevait à la palpation de la région sous-ombilicale, une masse transversale dure, large comme une demi-paume et non mobilisée par les mouvements respiratoires.

Le foie paraissait indépendant de cette tumeur.

Les radios montraient un élargissement du cadre duodénal avec allongement pylorique.

Un tubage gastrique est effectué et les frottis interprétés classe V. Très rapidement, le 7/4/53 il apparaît un ictère franc, foncé, de type nettement rétionnel et la malade est décédée le 24/4/53 dans un syndrome d'occlusion digestive haute.

La vérification montrait l'existence d'un cancer pancréatique comme les radios du cadre duodénal permettaient de le soupçonner. Par contre, ce que la cytologie avait révélé, il existait une propagation à la face postérieure de l'estomac d'environ 5 mm. de long seulement.

Par ailleurs, la sténose duodénale était complète, interdisant le reflux cellulaire pancréatico-gastrique.

Le second cas (observation N° 5303) se rapporte à une malade de 76 ans hospitalisée le 11/2/53 pour une asthénie évoluant depuis 3 mois.

L'examen révélait simplement une anémie à 2.770.000 hématies sans leucocytose. La réaction de Weber dans les selles était négative. Une première série de radios montrait un antre mal rempli, irrégulier, mais souple, faisant penser à une antrite.

La cytologie gastrique permet de conclure à une classe V sur la présence de placards cellulaires syncytiaux à noyaux typiquement cancéreux.

Sous l'influence du traitement et du repos, l'anémie se répare et une nouvelle série de radios souligne l'absence de "lésions organiques typiques".

Un nouveau tubage, comme le premier, confirme : "présence de nombreuses cellules indifférenciées, classe V" et une troisième série de films montre des images de "sténose tubulaire assez constante de l'antre pré-pylorique". L'intervention proposée est refusée par la malade qui sort du service le 27/3/53.

Revue le 7/5/53, elle signalait plusieurs épisodes de diarrhée ; l'asthénie et l'anémie persistaient et la région épigastrique était empâtée et douloureuse à la palpation.

L'examen radiologique (Dr. GUERET) permettait de conclure à l'existence d'un cancer antral. Dans ce cas, les signes radiologiques étaient en retard de 3 mois sur les signes cytologiques.

Les réponses faussement négatives : 4 cancers, 16 %.

Dans un cas, il s'agissait d'un cancer de la face antérieure, d'un cancer de la petite courbure dans deux autres cas. Ces cancers n'étaient ni particulièrement petits, ni particulièrement nécrosés en surface et le prélèvement direct sur la pièce était très riche en éléments cancéreux.

Dans l'un des cas, que l'histologie a révélé être un épithélioma colloïde, une deuxième lecture des frottis a permis de retrouver une cellule en bague à chaton dont le noyau était typiquement cancéreux et qui nous avait échappée.

La dernière réponse négative enfin, concerne un malade gastrectomisé en 1951 pour épithélioma glandulaire typique qui, actuellement dénutri et asthénisé, ne présente pourtant aucun signe clinique ou radiologique de métastase ou de récurrence.

Il n'est pas exclu qu'il puisse s'agir d'un syndrome multicarentiel post-gastrectomie sans reprise du processus tumoral.

Les réponses impossibles par frottis insuffisants : 4 cancers
16,6 %

3 fois sur 4, elles concernent des malades atteints de sténose pylorique. Dans un seul cas il s'agissait d'un cancer de la petite courbure.

Les réponses exactes négatives : 23 malades, 82 %.

Elles ne paraissent appeler aucun commentaire si ce n'est une mise en garde à propos de leur valeur. En effet, on ne juge jamais que sur quelques cellules gastriques et il est un certain nombre de cancers qui ne desquamant pas, les squirrhés en particulier.

Ces réponses négatives prennent toutefois une grande valeur lorsque la desquamation épithéliale est massive et permet de juger sur une grande quantité de cellules. Dans deux cas, nous avons pu ainsi affirmer l'absence de cancer malgré la présence d'altérations radiologiques antrales, assez suspects.

Les réponses faussement positives : 3 malades, 13 %.

Ce chiffre est particulièrement élevé, aussi discuterons nous chaque cas particulier.

Une première erreur est manifestement due à des histiocytes que nous avons pris pour des cellules cancéreuses.

Observation N° 5818 :

Il s'agissait d'une malade de 72 ans hospitalisée le 17/10/53 pour une anorexie avec amaigrissement et asthénie évoluant depuis 6 mois. On notait 3 mois avant l'hospitalisation, un épisode de diarrhée avec vomissements. L'examen était entièrement négatif tant au point de vue clinique que radiologique (estomac, oesophage, grêle, colons, poumons) et que biologique (urée, B.W., numération et formule sanguine, recherche du sang dans les selles). Par contre, un examen cytologique est interprété comme une classe IV en précisant que les atypies n'étant "jamais très nettes, il serait bon de refaire des frottis avant conclusion jamais définitive." Malheureusement, une phlébite, puis une cachexie progressive avec d'importants troubles psychiques interdirent ce nouvel examen.

La malade est décédée le 11/1/53 et l'autopsie complète ne révéla aucune lésion digestive. 3 coupes ont été prélevées sur l'estomac et ne montrèrent pas d'altérations.

Nous avons examiné récemment les lames, il est hors de doute que nous ne commettrions plus l'erreur de prendre des histiocytes aussi typiques pour des cellules cancéreuses.

La seconde erreur paraît plus grave car il s'agissait d'un malade de 45 ans entré dans le service le 3/12/52 pour un syndrome ulcéreux. Celui-ci évoluait depuis dix ans et avait présenté les phases d'activité et de guérison caractéristiques; après chaque crise, l'image ulcéreuse de la petite courbure n'était plus visible.

Mais depuis 18 mois la niche n'avait pas rétrocedée, et depuis 10 mois les douleurs étaient continues. L'hospitalisation améliora celles-ci mais devant la persistance de la niche l'intervention fut décidée, non sans qu'un tubage gastrique ait été effectué.

L'examen de la pièce de gastrectomie révéla un ulcère de CRUVEILHIER banal, en activité et particulièrement hémorragique. Il n'y avait aucun signe de dégénérescence.

Nous n'avons lu les frottis de ce malade que tout à fait récemment et sans connaître d'ailleurs les conclusions anatomo-pathologiques. Voici la transcription intégrale de notre interprétation :

"Surface explorée : 42 cm².

Frottis classe IV.

Les altérations nucléaires sont très nettes et indiscutables, mais le placard cellulaire où elles apparaissent est isolé.

Malade à surveiller de très près et réponse à confirmer car il n'est pas certain qu'il s'agisse de cellules glandulaires".

Apprenant alors les conclusions de l'examen anatomo-pathologique pratiqué sur une seule coupe transversale à l'ulcère, nous avons fait recouper en série le bloc corres-

pendant. Malheureusement ce n'est que la moitié de l'ulcère qui avait été incluse, l'autre n'ayant pas été conservée.

Ces coupes en série n'ont fait que confirmer la bénignité de cet ulcère. Toutefois, elles expliquent assez bien l'erreur cytologique; en effet, une berge de l'ulcère est particulièrement hyperplasique, avec des cellules glandulaires dédifférenciées, basophiles, à noyaux hypertrophiques et denses.

Après avoir revu nos frottis il semble que notre conclusion aurait dû être plus modérée, mais nous ne sommes pas sûrs dans un cas identique de ne pas refaire la même erreur.

Observation N° 5503

Le dernier malade qui ait donné lieu à un faux positif était âgé de 63 ans et venait en Avril 1952 consulter pour des pesanteurs post-prandiales précoces durant jusqu'au repas suivant, évoluant depuis deux mois avec une anorexie globale et une certaine asthénie.

L'examen clinique était négatif, une première série de films montrait seulement un manque de souplesse de la région antrale, persistant après morphine. Un examen cytologique est alors pratiqué et nous l'interprétons comme une classe IV sur la présence de cellules isolées à très gros noyaux, mais de structure relativement régulière. Opinion confirmée ultérieurement par d'autres cytologistes français et américains (laboratoire du Dr PAPANICOLAOU).

La gastroscopie que pratique le Dr. MOUTIER révèle "à un ou deux centimètres du pylore, perpendiculairement à la petite courbure, une petite ulcération transversale de 10 à 15 mm. de long sur 1 ou 2 mm. de large. Cette ulcération est centrée par un bourgeon minuscule et violacé de la grosseur d'une demi-tête d'épingle". Le Dr MOUTIER conclut à la "très grosse vraisemblance d'un épithélioma muco-érosif au début".

Le malade est alors hospitalisé et un deuxième examen cytologique effectué, nous l'interprétons comme une classe III.

Néanmoins, le malade est gastrectomisé. L'estomac ne montrait aucune lésion macroscopique, 3 prélèvements ne révélèrent histologiquement qu'une gastrite avec métaplasie intestinale; quelques glandes pyloriques d'architecture normale présentaient de grandes cellules à gros noyaux et à chromatine condensée. Il était en tous cas impossible d'interpréter ces altérations comme relevant d'un cancer, même "in situ".

Il est permis de supposer qu'une zone cancérisée a pu passer inaperçue à l'examen macroscopique, mais il est plus vraisemblable d'admettre qu'il s'agit d'une erreur de la cytologie.

Le malade est actuellement opéré depuis 18 mois et ne présente aucun trouble.

CONCLUSIONS :

72 % de réponses exactes dans les cancers gastriques, 82 % de réponses exactes dans les lésions bénignes tels sont les chiffres que nous avons obtenus dans 58 cas.

Le chiffre de 72 % de réponses exactes peut paraître élevé mais notre série est courte et nous avons surtout examiné des malades porteurs de cancers déjà évolués.

La proportion de nos faux positifs s'élève à 13 %, ce qui est nettement trop élevé mais il paraît juste de ramener ce chiffre à 8,6 % puisqu'une de nos erreurs est due aux histiocytes et à notre inexpérience au début de ce travail.

C O N C L U S I O N

Le diagnostic cytologique du cancer gastrique est né des travaux de BOAS, de CONHEIM, de REINEBOTH qui, dès 1882 ont montré à la suite de ROSENTHAL, la possibilité d'établir un diagnostic de malignité en examinant des fragments de muqueuse gastrique rejetés par les vomissements. Mais c'est en réalité MARINI qui, en 1909, établit sur des bases solides le cyto-diagnostic gastrique. Quelques années plus tard, LOEPER et BINET puis SIMON et CAUSSADE confirmèrent l'intérêt de cette technique.

Oubliées pendant plus de trente ans, ces recherches ont été reprises, en 1946 par PAPANICOLAOU et, en France, dès 1952 par SICARD et ses collaborateurs.

Parmi les nombreuses techniques proposées, deux semblent à retenir, celle de PAPANICOLAOU au ballon abrasif, et celle de ROSENTHAL à la Papaïne. Toutes deux obtiennent des résultats à peu près équivalents : 75 % de réponses positives exactes et moins de 1 % de réponses faussement positives.

Personnellement, nous avons utilisé la technique au ballon abrasif.

- a) Nous décrivons point par point les détails de cette technique ainsi que les modifications que nous avons cru devoir lui apporter.
- b) Nous rapportons nos recherches sur les facteurs conditionnant les altérations cellulaires. Nous avons essayé de montrer par des dosages d'enzymes et des mesures de résistance osmotique des cellules gastriques, que les altérations cellulaires relevaient beaucoup plus de l'hypotonie des milieux que de l'action des sucs digestifs.
- c) Nous ébauchons une description de la cytologie gastrique normale et cancéreuse, d'après les travaux parus et d'après l'expérience tirée de la lecture d'environ 900 frottis cytologiques digestifs.
- d) Nous discutons les problèmes que soulève la classification des frottis et l'énoncé des résultats et tout particulièrement ceux soulevés par les diagnostics faussement positifs.
- e) Nous présentons enfin nos résultats portant sur 58 malades.
Parmi ceux-ci :
 - 30 étaient porteurs d'un cancer gastrique vérifié :
 - = dans 5 cas, la qualité des frottis n'a permis aucune interprétation.
 - = Dans les 25 autres, 18 fois la cytologie a pu reconnaître le cancer, ce qui correspond donc à 72 % de réponses exactes

positives.

- 26 étaient exempts de cancer gastrique :
 - Dans 3 cas, la qualité des frottis n'a permis aucune interprétation.
 - Dans les 23 autres, 19 ont été correctement interprétés par la cytologie, soit 82,6 % de réponses exactes négatives. Par contre, il y eut 3 réponses cytologiques faussement positives, soit 13 %, et une réponse douteuse, soit 4,3 %.
- 2 malades enfin ont été perdus de vue.

Ces chiffres correspondent sensiblement à ceux des plus récentes statistiques, mais par contre, 13 % de faux positifs est un chiffre nettement trop élevé. Il est vraisemblable qu'actuellement nous éviterions au moins un, sinon deux, de nos faux positifs, ramenant la proportion à 8,6 % au plus.

Bien que notre expérience de la cytologie soit très modeste, il nous paraît nécessaire d'en souligner la difficulté tant au point de vue technique qu'interprétation. C'est un procédé lent qui exige pour chaque examen plus de 5 heures de travail et qui expose à des erreurs graves - les faux positifs - dont les plus expérimentés ne sont pas exempts.

Actuellement, la cytologie gastrique ne peut être qu'une méthode d'appoint, venant s'ajouter à la radiologie et à la gastroscopie, car il est encore trop tôt pour pouvoir préciser la place définitive qu'elle prendra dans le diagnostic précoce du cancer gastrique.

BIBLIOGRAPHIE

I) Historique de la cytologie gastrique

- + ALTHAUSEN & NOSALEVITZ Cités par Frishmann et Gorin.
- + BOAS Allgemeine Diagnostik und Therapie der Magenkrankheiten. Leipzig, 1901.
- + COHNHEIM Die Bedeutung Kleiner Schleimhautstücken für die Diagnostik der Magenkrankheiten. Arch. für Verdauungskrankh. Vol. I, n°3, 1895.
- + CRAMER Münch. und. wochenschr. N°52, 1891.
- + EBSTEIN Berl.Klin.Wochenschr. S 71, 1895.
- + ELSNER Die Frühdiagnose des Magenkarzinoms. Berliner Klinik. Jahrg 20, H 235, 1908.
- + ERLICH. Charité Ann. p.199, 1882.
- + EWALD Klinik des Verdauungskrankheiten. Berlin, 1893.
- + FRISHMANN & GORIN Signification diagnostique de l'examen du lavage gastrique chez des malades suspects de cancer de l'estomac. Klinicheskaya Meditsina, Moscou, Vol.20, n°10 pp.56-67, 1942.
- + HEMMETER New-York med. Record. 21, Oct. 1899.
- + LENHARTZ Mikroskopie und Chemie und Krankenbett. Berlin 1904.
- + LOEPER & BINET Cyto-diagnostic des affections de l'Estomac. Bull. et Mem. Soc.med.Hop.Paris. Vol.31, pp.563-574, 5 Mai 1911.
- + MARINI et FLORINI Riforma Med. Vol. 24, n°1, 1908.
- + MARINI Clinica Medica Italiana n°2, p.65, Février 1910.
- + MARINI Über die Diagnose des Magenkarzinoms auf Grund der cytologischen Untersuchungen des Spielwassers. Arch. für Verdauungskrankh. Vol. 15, p.251, 1909.
- + ORTH Lehrbuch der speziellen pathologischen Anatomie. Bd I, S 755 Berlin, 1887.
- + REINEBOTH Die Diagnose des Magenkarzinoms aus Spülwasser. Deutsches Archiv für kl.Medicin. Vol.47, n°1, p.62, 1896.
- + RIEDER Deutsch. Arch.f.Klin.Med. Vol.64, p.544, 1895.
- + RIEGEL Die Erkrankungen des Magens. Wien, 1897.
- + ROSENBAACH Deutsche und Wochenschr. N°33, 1882.
- + SAHLI Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. 1903.
- + SIMON ET CAUSSADE. Le Cyto-diagnostic du cancer de l'estomac. Presse Médicale. 8 Avril 1914.
- + ZEMANSKY Examination of fluids for tumor cells; analysis of 113 cases checked against subsequent examination of tissue. Am. J. Sc. Vol.175, pp. 489-504, 1928.

+ Nous avons signalé par une astérique les références bibliographiques que nous n'avons pu nous procurer.

II) Techniques - Statistiques -

- ANDERSEN MAC DONALD & OLSEN Cytologic Diagnosis of Carcinomax of the oesophagus and cardia of the Stomach. Proc Staff Meeting of the Mayo Clinic. Vol.24, n°10, pp.245-253, 1949.
- YRE Medical Times Vol.81, n°3, p.145, 1953.
- ISHOP The cytologic examination of stomach washings in carcinoma ulcer and gastritis. Portland Clin.Bull.Vol.3, p.15-28, 1949.
- LOCK HALL POLLARD BRYANT. The Cytology of gastric juice in the diagnosis of Gastric Carcinoma. Univ. Hosp. Bull. Ann Arbor. Vol.14, pp. 37-39, 1948.
- OTSFORD & TUCKER. Application of Cytologic smear Methods to Cancer diagnosis in a general Hospital. J. A. M. A. Vol. 142, p. 975, 1950.
- RYANT CRAIG MARVIN POLLARD. Cytologic study of gastric aspirates for carcinoma cells. J. Nat. of Cancer Inst. Vol. 10, pp. 459,466, 1949.
- AMPBELL & GRIMM. Experience with Papanicolaou stains in the study of gastric contents. Rev. Gastroenterol. Vol.15, pp. 21-32, 1948.
- COOPER & PAPANICOLAOU. J.A.M.A. Vol. 151, n°1, p.10, 1953.
- ONTAINE KLEIN & BOLLACK. Résultats du diagnostic cytologique des tumeurs malignes broncho-pulmonaires, gastriques, rénales, prostatiques et vésiculaires. Académie de Chirurgie. Séance du 26.III.52.
- ONTAINE KLEIN & BOLLACK. Examens cytologiques appliqués au diagnostic des tumeurs. Société de médecine de Strasbourg. Séance du 24.III.52.
- REMONT SMITH GRAHAM & MEIGS Early diagnosis of Cancer by study of Exfoliated Cells. J.A.M.A. Vol.138, N°7, pp.469 - 474, 1948.
- LADSTONE Use of Sponge in obtaining tissue from stomach for Biopsy Am.J.Clin.Path.Vol.19, p.891, 1949.
- RAHAM ULFELDER GREEN The cytologic method as an aid in the diagnosis of Gastric Carcinoma. Surg.Gyn.Obs.Vol.86, pp.257-259, 1948.
- ENNING & WHITE. Sur une nouvelle méthode de cytodagnostic des affections de l'estomac. Deutsche Med. Wochenschr. Vol.77, n°1, pp.1-32, 1952.
- OLLANDER HESS & SOBER. New technique for studying the cytology of gastric aspirate in Man. J. Nat. of Cancer Inst. Vol.7 p. 365, 1947.
- UNTER & RICHARDSON Cytologic recognition of cancer in exfoliated material from various sources; use ful modifications of Papanicolaou technique. Surg. Gyn. Obst. Vol. 85, pp.275-280, 1947.
- MBRIGLIA STEIN LOPUSNIAK. Cytological study of the upper Gastro-intestinal sediment. J.A.M.A. Vol.147, n°2, pp. 120-122, 1951.

- IVERSON Om Pavisingning of Tumorceller i Ventrikelskret, Ugesk. f. Laeger Vol. 113, p.358, 1951.
- KLEIN FONTAINE. Examens cytologiques appliqués au diagnostic des tumeurs. Strasbourg Médical Vol.13, n°10, pp.723-796, 1952.
- LEMON. The application of cytologic diagnosis to cancers of Stomach pancreas and biliary system. Annals of Internal Med. Vol. 37, n°3, p.525, 1952.
- LEMON. Abstracts of Comments on Dr W.Cooper's paper. Symposium of Exfoliative Cytology. Octobre 1951.
- LEMON. The early diagnosis of Cancer. Med. Clin. of North Amer. Vol.34, n°5, p.1381-1408, 1950.
- PANICO. Cytologic patterns in Benign and Malignant gastric and oesophageal lesions. Surg.Gyn. Obst. Vol.94, n°6, pp. 733-743, 1952.
- PANICO.PAPANICOLAOU.COOPER. Abrasive balloon for exfoliation of gastric cancer cells. J.A.M.A. Vol.143, pp. 1308-1311, 1950.
- PAPANICOLAOU. Daignostic value of expoliated cells from cancerous tissue. J.A.M.A. Vol.131, pp.372-378, 1946.
- PAPANICOLAOU & COOPER. The Cytology of the Gastric fluid in the diagnosis of Carcinoma of the Stomach. J.Nat. of Cancer Inst. Vol.7, pp. 357-360, 1947.
- PAPANICOLAOU SEYBOLT & COOPER. Value of gastric smears in the early diagnosis of gastric cancer. Symposium of Exfoliative. Cytology. Octobre 1951.
- PATTERSON. Use of the esophagoscope for obtaining biopsies of gastric tumors. J.Nat. of Cancer Inst. Vol.10, p.477, 1949.
- PINTO. Pneus. Med. Arg. Vol.37, n°43, pp.2800-2804, 1951.
- POLLARD BRYANT BLOCK & HALL. Diagnosis of gastric neoplasms by cytologic examination of gastric secretions. J.A.M.A. Vol. 139, pp. 71-74, 1949.
- RICHARDSON. Discussion of value of gastric smears in the early diagnosis of gastric cancer. Symposium of Exfoliative Cytology, Octobre 1951.
- RICHARDSON. Cyto-histological studies of gastric washings. J. Nat. of Cancer Inst. Vol.10, pp.467-475, 1949.
- RICHARDSON QUEEN & BISHOP. Cyto-histological diagnosis of material aspirated from stomach. Am.J.Cli.Path.Vol.19 pp.328-346, 1949.
- ROSENTHAL. Use of Papaïne as a mucolytic agent in procuring gastric smears. Symposium of Exfoliative Cytology, Octobre 1951.
- ROSENTHAL & TRAUT. The mucolytic action of Papaïne cell concentration in the diagnosis of gastric cancer. Cancer. Vol.4, n°1, p.147, 1951.
- RUBIN. The present status of exfoliative cytology in the diagnosis of gastro-intestinal malignancies. Gastroenterology. Vol.21, n°1, p.1, 1952.
- SATTENSPIEL. Cytological diagnosis of cancer in transsudats et exsudates. Surg. Gyn. Obst. Vol. 89, p.478, 1949.

- SEYBOLT PAPANICOLAOU & COOPER. Cytology in the diagnosis of gastric cancer. Cancer. Vol.4, n°2, pp.285-295, 1951.
- STATE GAVISER HUBBARD & WANGESTEEN. Early diagnosis of gastric cancer. J.A.M.A. Vol.142, p.1128, 1950.
- SWARTZ RAGINS BERNSTEIN & MEYER. Diagnosis of gastric cancer by cytologic examination of gastric washings. Gastroenterology. Vol.114, n°2, pp.265-274, 1950.
- SICARD PERIER GODET & BESIMENSKY. Le cyto-diagnostic du cancer de l'estomac. Presse Medicale. Vol.60, n°33, pp.720 - 721, 1952.
- TOMENIUS. A study on gastric sediment. Act. Med. Scand. Suppl. 189, pp.1-197, 1947.
- TOMENIUS. The cytologic examination of the gastric juice and mucus. Am. J. Digest. Dis. Vol.16, p.425, 1949.
- TOMENIUS. Nord. med. Vol. 26, p.1015, 1945. et aussi Vol.28, p. 2563, 1945.
- ULFELDER GRAHAM & MEIGS. Further studies on the cytologic method in the problem of gastric cancer. Annals of Surg. Vol. 128, pp. 422-424, 1948.
- WOLLUM & POLLARD. Cytologic study of the gastric aspirate for carcinoma cells by the Papanicolaou method and by a paraffine block technique. Midwest Meeting Am. Coll. Physicians. Octobre 1951.
- WIENBENGA JAUSSEN & VERDONK. Gastrobiopsies. Sem. des des Hopitaux. Vol. 47, p.203, 1951.
- ZIMMERMANN & LUBLINER. Tumor cells in diagnostic specimens : their detection and significance. S.Clin. North Am. Vol.29, p.501, 1949.

III) Articles d'intérêt général -

- COMAN. Decreased mutual adhesiveness, a property of cells from squamous cell carcinomas. Cancer Research. Vol.4, pp. 625-629, 1944.
- DELARUE. Les causes du développement des méthodes cytologiques. Sem. des Hop. p.1012, 28° année, 30.III.1952.
- DELARUE ET ORCEL. Revue critique des techniques de prélèvement et des préparations cytologiques. Même référence. p.1014.
- DELARUE & ORCEL. Indications des méthodes cytologiques. Même référence, p. 1024.
- DELARUE & ORCEL. Etude des résultats obtenus par les techniques cytologiques et des principales causes d'erreurs. Même référence p. 1026.
- DELARUE & ORCEL. Valeur de la méthode cytologique. Sem. des Hop. p. 2035, 28° Année, 30.VI.1952.

- ELIAS. Revue médicale de Liège. Vol.8, n°2 et 3, 1953.
- FLAWCETT VALLEE & SOULE. A method for concentration and segregation of malignant cells from bloody pleural and peritoneal fluids. Science Vol.3, p. 2872, 1950.
- GLADSTONE. Am. J. Med. Vol.5, pp.849-852, 1948.
- " Am. J. Clin. Path. Vol.19, pp.92-94, 1949.
- " Cancer. Vol.2, pp.604-614, 1949.
- HOLLANDER & GOLDFISHER. Histological study of the destruction and regeneration of the gastric mucous barrier following applications of Eugenol Preliminary report. J. of Nat. Cancer Inst. Vol.10, pp. 339-354. 1949.
- HOLLANDER SONNENBLICK & SOBER. Experimental impairment of the gastrimucous barrier in dogs. J. Nat. Cancer. Inst. Vol.7, pp. 361,364, 1947.
- MAC CUTCHEON & COMAN. Spreading factor in human carcinomas. Cancer research Vol.7, pp. 379-383, 1947.
- MAC CUTCHEON COMAN & MOORE. Studies on invasiveness of cancer. Adhesiveness of malignant cells in various human adenocarcinomas. Cancer. Vol.1, p.460, 1948.
- + MAC DONALD & DAHLIN. An evaluation of the cytologic examination of body secretions in the diagnosis of cancer. Surg. Gyn. Obst. Vol.94, pp. 755-757, 1952.
- MELLORS PAPANICOLAOU & GLASSMANN. A microfluorometric method under development for the scanning and the detection of cancer cells in vaginal smears. Am. J. Path. Vol.27, pp.734-735, 1951.
- PAPANICOLAOU. A new procedure for staining vaginal smears. Science. Vol.95, p.438, 1942.

IV) Monographies -

- + HOFFMAN & DEYSE. Bibliography of the cytologic diagnosis of cancer. 14 (Md) Feder. Secur. agency, U.S. publ. health serv. Nat. Inst. of health, 1952, in-4° (20x26), VII 114, pp. ronéogr.
- THE CYTOLOGIC DIAGNOSIS OF CANCER par les membres du laboratoire du Vincent Memorial Hospital. Edité par Saunders C° 1950, PHILADELPHIE.
- LES FROTIS VAGINAUX par PUNDEL. Edité par Masson & Cie, PARIS
- POUCHET. "Théorie positive de l'ovulation spontanée et de la fécondation des mammifères dans l'espèce humaine basée sur l'observation de toute la série animale. J.B. BAILLIERE. Paris 1847.

Vu, le Président de Thèse :

Professeur DELARUE

Vu, le Doyen de la Faculté
de Médecine de Paris :

Professeur Léon BINET

Vu et permis d'imprimer,
Le Recteur de l'Académie de Paris :

J. SARRAILH

Editions de l'A.G.E.M.P.

Editions de l'A. G. E. M. P.

